Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

165. BAND, 5. HEFT
MIT 15 ABBILDUNGEN IM TEXT
(ABGESCHLOSSEN AM 15. JANUAR 1959)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1959

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 165 **Inhaltsverzeichnis** **Heft 5**

Originalabhandlungen Seite

Scheffer, F., E. Welte und K. Müller, Zur Methodik der papierchromatographischen Bestimmung von Mono- und Oligosacchariden in grünen Pflanzen und Früchten. Mit 7 Textabbildungen 321

Decker, P., und K. Kikodse, Charakterisierung von komplizierten Naturstoffgemischen durch simultane mehrdimensionale Papierchromatographie. Mit 3 Textabbildungen 337

Pande, C. S., and T. S. Srivastava, Analytical Aspects of some Organic Acids. Part II. Gravimetric Estimation of Zirconium by m-Phenylenedioxydiacetic Acid 343

Stevančević, D. B., Direct Spectrophotometric Determination of Microgram Quantities of Copper in High Purity Uranium with Oxaldihydrazide. With 2 Figures in the Text 348

Claassen, A., and L. Bastings, The Gravimetric Determination of Nickel with Dimethylglyoxime in the Presence of Copper 354

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Agrikulturchemischen und Bodenkundlichen Institut
der Universität Göttingen

Zur Methodik der papierchromatographischen Bestimmung von Mono- und Oligosacchariden in grünen Pflanzen und Früchten

Von
F. Scheffer, E. Welte und K. Müller

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. August 1958)

Einleitung

Vor Einführung der papierchromatographischen Methodik in die analytische Chemie beruhte der übliche qualitative und quantitative Nachweis von Zuckern auf dem Reduktionsvermögen der Aldosen. Dieses Verfahren genügte den von der Zuckerindustrie gestellten Ansprüchen, ergab allerdings nur Näherungswerte, da die reduzierenden Zucker unterschiedliche Reduktionskraft besitzen. Als weitere Schwierigkeit trat hinzu, daß physiologische Untersuchungen über die Biosynthese der verschiedenen Mono-, Di- und Polysaccharide unbefriedigend verlaufen mußten, solange keine geeigneten Trennungsmöglichkeiten bestanden. Durch die chromatographischen Trennverfahren ist dieses für den gesamten Kohlenhydratstoffwechsel so außerordentlich wichtige Problem nunmehr einer Lösung zugänglich geworden.

Auf die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der analytischen Ergebnisse hat die Aufbereitung des zu untersuchenden Materials entscheidenden Einfluß. Die Analyse läßt sich nur dann zur Deutung physiologischer Vorgänge heranziehen, wenn sich die zur Zeit der Ernte in der Pflanze enthaltenen Kohlenhydrate während der Aufbereitung und Trennung nicht verändern. Neben enzymatisch verursachten Veränderungen treten insbesondere solche auf, die bereits durch geringe Säure- bzw. Laugekonzentrationen ausgelöst werden können (Hydrolyse, Oxydation).

Die sich aus der Bestimmung der Mono- und Oligosaccharide im natürlichen, d. h. nach der Ernte unveränderten Zustand ergebenden analytischen Fragen wurden daher eingehend untersucht und führten zur Ausarbeitung der im weiteren Verlauf beschriebenen Untersuchungsmethodik.

I. Ernte und Aufbereitung des Materials

Bei vergleichenden physiologischen Untersuchungen über den Zuckerhaushalt lebender Pflanzen ist nicht nur der Zeitpunkt der Ernte während der Vegetationsperiode, sondern ebenfalls die Tageszeit der Ernte wichtig.

Die Tagesrhythmik der Stoffwechselintensität — in erster Linie bedingt durch die sich ständig ändernden Licht- und Temperaturverhältnisse — verursacht gerade bei den einfachen Zuckern starke Schwankungen. So enthielt z. B. abends geerntetes Weidelgras einen 8—10fach höheren Zuckergehalt als solches, das vormittags geschnitten wurde. Pigden[34] empfiehlt die Zeit zwischen 14 und 17 Uhr als günstig für die Ernte, da nach seinen Untersuchungen die Schwankungen im Zuckergehalt nachmittags am geringsten sind.

Um während und nach der Ernte Veränderungen im Zuckergehalt des grünen Pflanzenmaterials durch Zellatmung und andere enzymatische Reaktionen auf ein Mindestmaß herabzudrücken, ist nicht nur die rasche Durchführung der Ernte, sondern anschließend eine sofortige Inaktivierung aller physiologischen Prozesse anzustreben. Drei Verfahren, die den Ansprüchen einer solchen Konservierung am besten zu entsprechen schienen, wurden überprüft:

1. Übergießen der Pflanzenmasse mit heißem 70%igem Äthanol unter Zusatz von Magnesiumcarbonat zur Neutralisierung der Säuren, anschließendes Zerkleinern der Pflanzen im Starmix oder Homogenisator[1,2,17,27,50,51].

2. Trocknung des Materials im Frischlufttrockenschrank bei einer Temperatur von höchstens 65° C unmittelbar nach der Ernte und anschließendes Mahlen in einer dazu geeigneten Mühle[2,15,53].

3. Konservierung der Proben durch Gefriertrocknung[23,31,34].

Durch die Behandlung mit Alkohol werden im Gegensatz zur Trocknungsmethode die Zellwände aufgesprengt und die Fermente wirkungslos gemacht. Das Verfahren ist allerdings nur für solche pflanzliche Substanzen geeignet, die sich leicht zerkleinern lassen (Spinat, Salat und andere grüne Pflanzen).

Die Trocknung des zu untersuchenden Materials durch Wasserentzug auf thermischem Wege läßt sich ohne Schwierigkeiten durchführen, wenn die beim Erwärmen eintretenden Veränderungen verschiedener organischer Substanzen keinen Einfluß auf die Bestimmung der zu untersuchenden Stoffe haben. Das trifft allgemein für die nicht flüchtigen Mineralstoffe zu. Für die Bestimmung von organischen Verbindungen, insbesondere von Zuckern, Aminosäuren, organischen Säuren und dergleichen ist hingegen diese Art der Trocknung nur bedingt anwendbar.

Demgegenüber darf die Gefriertrocknung als eine universell anwendbare Trocknungsmethodik gelten. Sie vereinigt die Vorteile beider vorher genannter Methoden und hat sich deswegen in den letzten Jahren immer stärker durchgesetzt. Unabhängig von der Beschaffenheit der Ausgangssubstanz kann in sehr kurzer Zeit unter weitgehender Ausschaltung stofflicher Veränderungen das Trockengut in einwandfreiem Zustand und notfalls keimfrei für praktisch unbegrenzte Dauer aufbewahrt werden.

II. Extraktion der Zucker

Gewöhnlich werden die in dem getrockneten Pflanzenmaterial befindlichen Zucker mit Alkohol unterschiedlichen Wassergehalts im Soxhlet extrahiert[2,15,47,50]. Hierbei sind Temperatur und Alkoholkonzentration

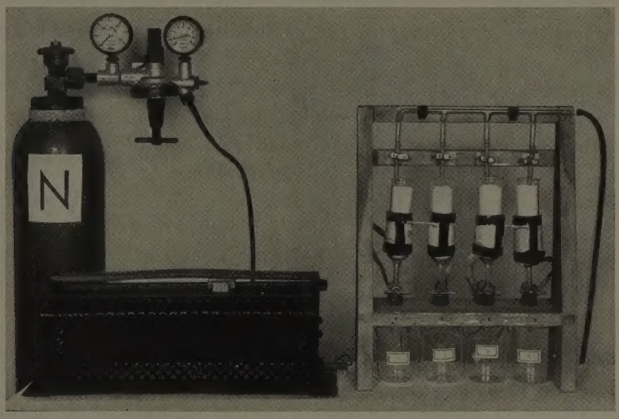

Abb. 1. Extraktionsgerät zur quantitativen Bestimmung von Zuckern in pflanzlichem Material

für die Ausbeute und Reinheit der Zucker von maßgeblichem Einfluß. Durch Kaltextraktionen lassen sich die Zucker nicht quantitativ herauslösen. Temperaturen über 70° C verursachen chemische Veränderungen oder verkleistern die mitgelöste Stärke[37,39]. Auch die Vakuumextraktion konnte nicht befriedigen. Zur Umgehung dieser Schwierigkeiten wurde ein Verfahren ausgearbeitet, das durch mehrfache Extraktion bei verschiedenen Alkoholkonzentrationen im Temperaturbereich von 60—65° C eine quantitative Ausbeute chemisch unveränderter Zucker gewährleistet (Abb. 1 u. 2).

Wie aus den Abbildungen ersichtlich, wurden nach unten mit Glashahn verschließbare Perkolationsröhrchen mit einer durch Asbestpappe nach außen isolierten Heizspirale umwickelt und in einem Holzgestell stehend befestigt. Die Heizspiralen der einzelnen Röhrchen sind miteinander verbunden und über einen Transformator zu

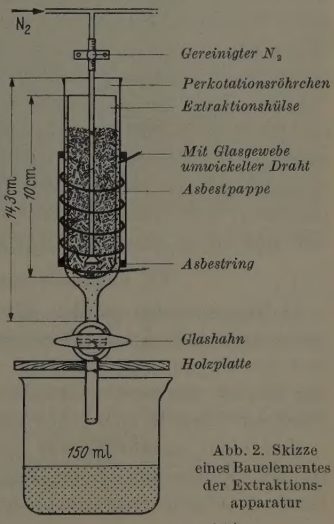

Abb. 2. Skizze eines Bauelementes der Extraktionsapparatur

regulieren. Für das zu extrahierende Material finden Extraktionshülsen von der Größe 25×100 mm (z. B. von der Fa. Schl. & Sch. Nr. 603) Verwendung. In die Hülsen tauchen bis auf den Boden Mikrofritten ein, die durch Polyäthylenschläuche mit Glasröhrchen verbunden und über eine gemeinsame Zuleitung an eine Stickstoffbombe angeschlossen sind (Waschvorlage zur Reinigung zwischenschalten!). Ein gleichmäßiger Gasstrom durch die Fritten wird über Quetschhähne reguliert.

III. Vorbereitung des Extraktes zur papierchromatographischen Analyse

a) Reinigung. Die Frage, ob eine Reinigung des Extraktes von Stoffen, die die Zuckerbestimmung stören können (Mineralsalze, Lipoide, Eiweiße, reduzierende Nicht-Zucker u. a.) in jedem Fall notwendig wird, ist bei der Papierchromatographie umstritten. Gerade die Beseitigung der Nicht-Zuckerstoffe, z. B. die Enteiweißung durch Zugabe von Schwermetallsalzen, führt häufig zu störenden Nebenreaktionen, da die in Lösung befindlichen Zucker zum Teil okkludiert oder mitgerissen werden[3,18,43]. Die Reinigung der Extrakte über Ionenaustauscher verdient allgemein den Vorzug[6,32,52]. Die Austauschersäule kann aus geeigneten Kunstharzen so zusammengesetzt werden, daß die Eiweißstoffe sowie sämtliche elektrisch geladenen Lösungspartner zurückgehalten werden und nur die elektroneutralen Zucker die Säule passieren. Der einzige Nachteil des Verfahrens liegt in der durch die Elution bedingten Verdünnung der Extrakte, wodurch der Einengungsprozeß erschwert wird. Als weiteres Reinigungsmittel zuckerhaltiger Extrakte wird Aktivkohle[18,24,45] empfohlen. Vorversuche mit im Handel erhältlichen Aktivkohlefiltern haben eine einwandfreie Klärung der Extrakte ergeben, wobei vor allem die Chlorophyllkomponente und auch andere Farbstoffe, außer Carotin zurückgehalten werden, ohne den Durchlauf der Zucker zu stören (im Gegensatz zu Aktivkohlepulver[29]). Aktivkohlefilter sind daher generell zur Reinigung und Klärung der Extrakte verwandt worden.

b) Einengen der gereinigten Extrakte. Um chemische Veränderungen der Zucker weitgehend auszuschließen, sollen die Extrakte bei möglichst niedriger Temperatur (25—30° C) im Vakuum eingeengt werden. Zur Vermeidung des Stoßens empfiehlt sich die Verwendung von Siedecapillaren (aus dickem Capillarglasrohr ausgezogen). Starkes Schäumen läßt sich durch Zusatz geringer Mengen von Silicon vermeiden.

IV. Papierchromatographische Trennung

In Vorversuchen wurden mit der absteigenden Methode unter Verwendung von Essigester, Eisessig und Wasser als Lösungsmittelgemisch und der Papiersorte 2043 bMgl der Fa. Schl. & Sch. bei der Trennung der Zucker die besten Resultate erzielt. Das Papier besaß auch in feuchtem Zustand eine große Reißfestigkeit.

Von nicht unerheblichem Einfluß auf Laufzeit und Trennschärfe ist die Temperatur. Hohe Temperaturen (30° C) verkürzen zwar die Laufzeit[5], beeinträchtigen jedoch den Trenneffekt (Veresterung des

Lösungsmittelgemisches). Bei zu niedrigen Temperaturen (20° C) liegen die Verhältnisse umgekehrt. Den gestellten Ansprüchen wird eine konstante Temperatur von 25° C am besten gerecht.

Der von SCHWERDTFEGER[41] gemachte Vorschlag, zur Erzielung günstiger Strömungsverhältnisse zwischen der Startpunktreihe Papierbrücken auszuschneiden, hat sich gut bewährt. Streifenbildung wurde auf diese Weise verhindert (Abb. 3).

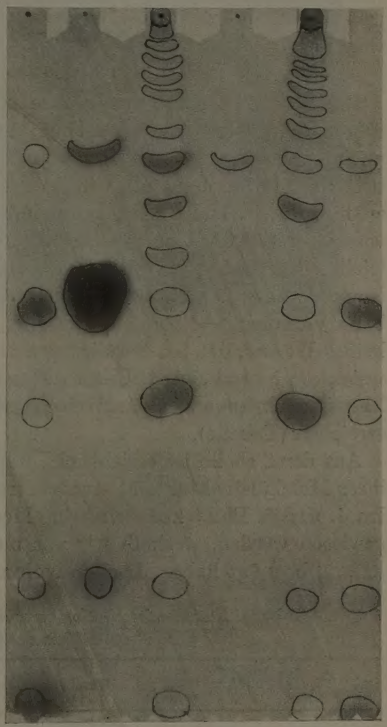

Abb. 3. Chromatogramm von Zuckern. Zur Erzielung günstiger Strömungsverhältnisse dienen ausgeschnittene Papierbrücken

Die unter den vorgenannten Bedingungen erzielten Trenneffekte waren selbst bei schwer trennbaren Zuckern so gut, daß auf die zeitraubende zweidimensionale Arbeitsmethodik verzichtet werden konnte.

Die R_f-Werte ließen sich nur bedingt zur Identifizierung der verschiedenen Zucker verwerten, da die jeweils vorherrschenden Versuchsbedingungen (Papierbeschaffenheit, Temperatur, Begleitstoffe u. a.) zum Teil unvermeidlichen Schwankungen ausgesetzt waren. Aus diesem Grunde haben wir den Nachweis der Zucker mit Hilfe bekannter Vergleichszucker vorgenommen, da bei diesem Verfahren Änderungen in den Versuchsbedingungen keine Rolle mehr spielen, weil sie sich in gleicher Weise auf Vergleichszucker und die zu bestimmenden unbekannten Zucker auswirken.

Als Bezugszucker* setzten wir den zur Chromatographie vorgesehenen Extrakten eine bekannte Menge Xylose zu, die in den zu untersuchenden

* Unter *Bezugszucker* versteht man eine Zuckerart, die einem Extrakt zugegeben wird, in welchem sie nicht vorhanden ist. Auf die Menge dieses Zuckers wird die aufgetragene Substanzmenge bezogen (Pipettenfehler).

Als *Vergleichszucker* werden neben den Extraktpunkten bekannte Zucker aufgetragen und nach ihnen Lage und Art der getrennten Zucker des Extraktes fixiert (als Standardzucker im Handel erhältlich).

Pflanzenmaterialien nicht nachgewiesen wurde. Nach erfolgter Trennung wurde die wiedergefundene Menge Xylose aus einer Eichkurve ermittelt und die Menge des aufgetragenen Extraktes bestimmt[12,50]. Die Methodik führt bei Verwendung einer geeichten Mikropipette von 0,02—0,1 ml Eichvolumen zu ausreichend genauen und reproduzierbaren Ergebnissen (± 1—2%). Bei Anwendung gut geeichter Mikropipetten (etwa der „Agla"-Schraubenpipette) kann auch ohne Bezugszucker gearbeitet werden[49,50].

V. Elution der Zucker

Bei der Elution ist dem mikroanalytischen Charakter der Papierchromatographie entsprechend auf quantitatives Herauslösen der Zucker mit möglichst geringem Flüssigkeitsvolumen zu achten. Je mehr Wasser bei der Elution benötigt wird, um so schwieriger gestaltet sich der spätere Nachweis der Zucker, da ein erneutes Einengen notwendig wird, was neben der Gefahr der Konstitutionsveränderung der Kohlenhydrate leicht einen Substanzverlust zur Folge haben kann. Von diesen Überlegungen ausgehend, haben wir verschiedene in der Literatur beschriebene Verfahren[4,8,9,22,50] geprüft und gefunden, daß sich zum Eluieren heißes Wasser, das bei Berührung mit dem Papier noch etwa 70° C aufweist, am besten eignet. Unter dieser Voraussetzung läßt sich mit einer Flüssigkeitsmenge von 6 ml eine vollständige Extraktion der Zucker erreichen (Tabelle).

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Zucker in Abhängigkeit von ihrer Molekülstruktur und -größe verschieden schnell in Lösung gehen. Im 4. und 5. Eluat konnten keine Mono- und Disaccharide mehr nachgewiesen werden, weshalb wir uns mit einem 3maligen Durchgang zu je 2 ml begnügt haben. Das Endvolumen beträgt dann genau 6 ml.

Tabelle. *Stufenweise Elution verschiedener Zucker in 4 Durchgängen mit je 2 ml heißem destilliertem Wasser*

Zucker in %*	1. Durchg.	2. Durchg.	3. Durchg.	4. Durchg.	% Summe
Glucose	71,7	23,4	4,8	—	99,9
Fructose	69,3	21,5	9,1	—	99,9
Saccharose	48,5	33,9	17,5	—	99,9
Maltose	43,6	34,1	22,1	—	99,8

* Durchschnitt von je 5 Proben.

Die Apparatur (Abb. 4 u. 5) sei kurz beschrieben: Ein Glasröhrchen mit einem Fassungsvermögen von etwa 4 ml dient zur Aufnahme des zuckerhaltigen, vorher in kleine Stücke geschnittenen Papierstreifens aus dem Chromatogramm. Am unteren Ende des Röhrchens befindet sich ein Glashahn und in Fortsetzung davon ein schmales Glasrohr, an dessen Ende eine Mikrofritte (G3) mit einem Polyäthylenschlauchstück befestigt ist. Ein unterhalb des Hahnes auf das Glasrohr geschobener durchbohrter Gummistopfen hält einen Glasvorstoß mit Normalschliff.

Ein schmales Glasrohr führt gewinkelt von außen in das Elutionsröhrchen hinein und ist am Ende spitz ausgezogen. Die Spitze liegt etwa 2 mm senkrecht über der Durchbohrung des Glashahnes. Dieses Glasrohr dient zum Einleiten von

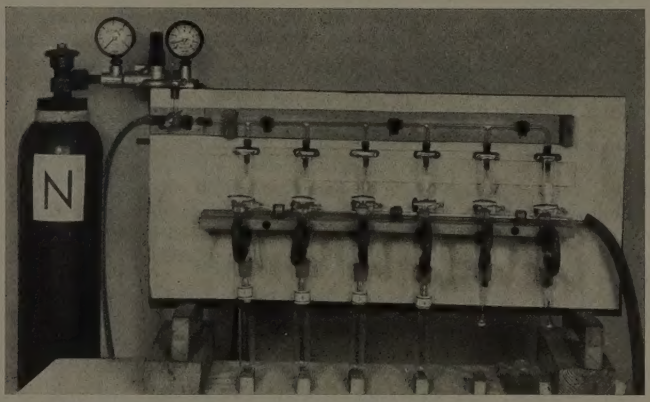

Abb. 4. Elutionsgerät zum gleichzeitigen Eluieren von 6 Substanzzuckern aus dem Papierchromatogramm

gereinigtem Stickstoff in das Elutionsgefäß. Die Gaszufuhr kann durch einen Quetschhahn geregelt werden. Der Vorstoß wird an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen. An den Normalschliff werden Colorimetergläser mit Eichmarken bei 6 und 25 ml angesetzt. Auch Erlenmeyer-Kölbchen mit Schliff können für titrimetrische Bestimmungen angeschlossen werden. Alle Glasteile bestehen aus hitzebeständigem Geräteglas. Mehrere Aggregate können gleichzeitig nebeneinanderbetrieben werden. Abb. 4 zeigt 6 Eluierapparate an einem Holzbrett befestigt. Mittels zweier Abzweigrohre sind die einzelnen Apparate gemeinsam an Gas und Wasserstrahlpumpe angeschlossen. Durch entsprechend angebrachte Unterbrechungshähne ist jedes Gerät unabhängig von den anderen auch allein arbeitsfähig. Die Fritten sollen Papierfäserchen, die den Nachweis der Zucker empfindlich stören können, beim Absaugen des Eluates zurückhalten.

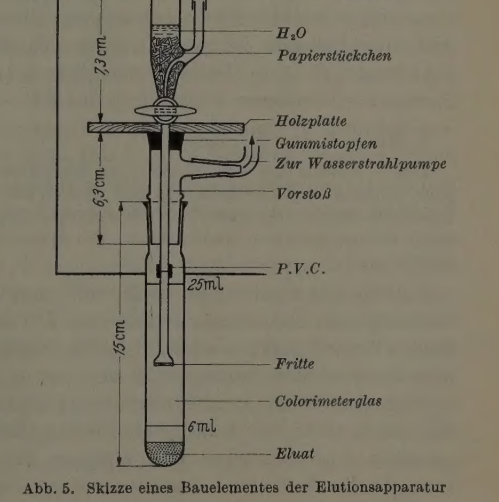

Abb. 5. Skizze eines Bauelementes der Elutionsapparatur

VI. Nachweis der Zucker

Zur quantitativen Bestimmung der Zucker werden in der Literatur zahlreiche Methoden[6,20,26,32] angegeben. Nach eingehenden Studien der uns geeignet erscheinenden Möglichkeiten haben wir 6 Methoden in die engere Wahl gezogen und auf ihre Brauchbarkeit für unsere Zwecke überprüft:

1. Nach Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers u. Smith[10].

Die im wäßrigen Eluat enthaltenen Zucker werden mit Schwefelsäure hydrolysiert. Bei Gegenwart 80%igen wäßrigen Phenols bildet sich eine gelbe Farbe, deren Intensität von der jeweiligen Zuckerkonzentration abhängig ist. Die Methode fällt durch ihre einfache Handhabung und Eignung zur Serienanalyse auf. Bei Verwendung konzentrierter Schwefelsäure treten jedoch leicht Fehlmessungen auf, hervorgerufen durch Spuren von Papierfasern oder irgendwelche Polysaccharide (Dedonder[7]).

Eigene Untersuchungen ergeben eine ungenügende Reproduzierbarkeit der Werte. Außerdem liegen die Papierblindwerte sehr hoch; Mengen unter 75 μg Glucose, Fructose oder Saccharose können nicht mehr sicher bestimmt werden. Der durchschnittliche Fehler der Methode beträgt etwa $\pm$ 10%.

2. Nach Hirst u. Jones[16].

Nach dieser Methode werden die Zucker mit Hilfe von Natriummetaperjodat bei einer Temperatur von 100° C oxydiert. Die dabei freiwerdende Ameisensäure wird gegen Natronlauge unter Verwendung eines Indicators (Methylrot) titriert.

Während Monosaccharide mit guter Genauigkeit (Fehler $\pm$ 1%) nachgewiesen werden können, fallen die Werte für Di- und Trisaccharide ohne vorherige Hydrolyse zu niedrig aus. Durch Hydrolyse mit Salzsäure und anschließende Neutralisation des Hydrolysates mit Natronlauge geht wieder die gute Reproduzierbarkeit der Werte verloren. Die untere Grenze nachweisbarer Zucker liegt bei 300—400 μg.

3. Nach Jones u. Pridham[19].

Durch Einwirkung von Benzidin in Essigsäure auf lösliche Zucker entsteht nach längerer Wärmebehandlung auf dem Wasserbad eine gelbe Farbe, deren Intensität direkt proportional der Zuckerkonzentration ist und die bei der Wellenlänge 490 mμ gemessen werden kann. Ein Maximum der Absorptionskurve liegt bei 650 mμ.

Auch bei Anwendung dieser Methode zeigten unsere Ergebnisse keine befriedigende Reproduzierbarkeit der Werte. Den Fehler der Methode fanden wir bei durchschnittlich $\pm$ 8%, entgegen der von Jones u. Pridham festgestellten Fehlergrenze von nur $\pm$ 3%. Die Farbwerte waren zeitlich nicht konstant und änderten sich schon nach kurzer Zeit beträchtlich (nach 1 Std bis zu 30% des sofort gemessenen Wertes). Gut nachzuweisen waren Glucose und Maltose. Bei Fructose und Saccharose versagte die Methode.

4. Nach Wallenfels[48], Fischer u. Dörfel[11], Paech u. Tracey[32] sowie Cramer[6].

Im Gegensatz zu den übrigen Nachweisverfahren braucht hier keine Elution der Zucker aus dem Chromatogramm zu erfolgen. Die Anfärbung der Zucker geschieht mit Triphenyltetrazoliumchlorid unter Bildung des bei 75° C in wasserdampfgesättigter Atmosphäre unlöslichen, rotgefärbten Triphenylformazans. Der Farbkomplex ist außerordentlich empfindlich gegenüber kleinsten Temperaturänderungen. Auch die übrigen Versuchsbedingungen (gleiche Menge Sprühreagens, gleiche Entwicklungsdauer) sind peinlichst genau einzuhalten, wenn reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden sollen. Im übrigen ist nur Fructose einigermaßen genau zu bestimmen[7,26].

Unsere Untersuchungen haben die mangelnde Eignung dieses Verfahrens erhärten können.

5. Nach Heinze u. Murneck[15].

Die Methode, Zucker mit Hilfe von gesättigter Pikrinsäure und Natriumcarbonat colorimetrisch nachzuweisen, ergab ebenfalls keine befriedigenden Resultate.

6. Nach Somogyi-Nelson[30,42,44].

Diese Methode ist als Abwandlung des Verfahrens nach Fehling-Soxhleth[20] anzusehen. Für sie wird in der Literatur[2,6,12,26,50] neben einer guten Reproduzierbarkeit eine besonders enge Fehlergrenze ($\pm$ 1%) angegeben. Die zu analysierende Zuckerlösung wird mit einem aus Cu^{II}-Lösung und Seignettesalz hergestellten Reagens zu gleichen Volumenteilen gemischt und auf dem Wasserbad erwärmt. Der entstehende blaue Farbkomplex, der gegenüber geringen p_H-Schwankungen beständig ist, kann bei der Wellenlänge 750 mμ gemessen werden.

Die Fehlergrenze der Methode liegt bei dem in der Literatur angegebenen Wert, wenn ein Phosphatpuffer benutzt wird. Bei Verwendung eines Puffergemisches von Natriumcarbonat und Natriumhydrogencarbonat liegen die Streuungen etwas höher. Im Gegensatz zu den anderen überprüften Methoden können alle löslichen Zucker gleich gut gemessen werden.

Die Eichreihen folgen innerhalb des angegebenen Konzentrationsbereiches dem Lambert-Beerschen Gesetz. Parallelverschiebungen treten nur bei Verwendung von Reagentien eines neuen Ansatzes auf. Lediglich Glucose zeigt oberhalb 400 μg Abweichungen vom geradlinigen Verlauf* (s. Abb. 6, S. 330).

Zur Klärung der Frage, ob zur genauen Bestimmung der im Eluat befindliche Extraktzucker beim Chromatographieren Vergleichszucker als Eichsubstanzen zugesetzt werden müssen, wurden von den uns interessierenden Zuckern jeweils 2 Vergleichsreihen (50—100—200—300 bis 400 μg) auf verschiedene Art behandelt. Die erste wurde im Chromatogramm getrennt, eluiert und die Extinktion der Zuckerlösungen nach Somogyi-Nelson ermittelt. Von der zweiten Vergleichsreihe wurde die

* Auch die titrimetrische Bestimmung der Zucker nach Somogyi läßt sich für alle Zucker mit gleich guter Genauigkeit verwenden.

Extinktion unter sonst gleichen Bedingungen, jedoch *ohne* papierchromatographische Vorbehandlung bestimmt. Die im Chromatogramm gelaufenen Extraktzucker ergaben im Vergleich zu den chromatographisch unbehandelten übereinstimmende Werte mit einer durchschnittlichen Abweichung von $\pm$ 0,8%, wenn die Papierblindwerte berücksichtigt wurden. Es konnte daher auf eine chromatographische Behandlung der Vergleichszucker zu jedem Ansatz der Extraktzucker verzichtet werden.

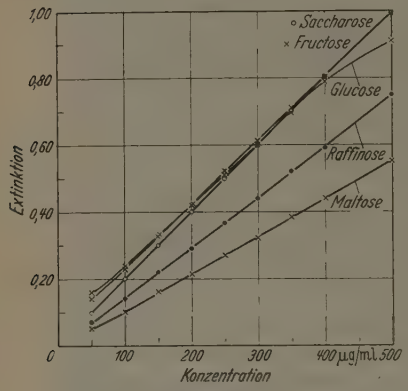

Abb. 6. Extinktionskurven verschiedener Zucker im Konzentrationsbereich 0—500 µg/ml. λ 740 mµ; Schichtdicke der Küvette 1 mm; Messung mit Zeiss-Opton MQ 4; Hydrolyse 1 n Salzsäure, 1 Std

Mit Ausnahme der reduzierenden Zucker müssen alle übrigen vor dem eigentlichen Nachweis hydrolysiert werden. Hierbei können verschiedene Nebenreaktionen[46] ablaufen, deren Ausmaß an Hand des Chromatogramms erkannt werden kann. Bei der salzsauren Hydrolyse verhalten sich die höheren Saccharide unterschiedlich. Nach Hadorn[14], der verschiedene Hydrolysenmethoden überprüft hat[21,36,38,40], wird Saccharose bereits unter relativ schonenden Bedingungen gespalten. Maltose, Trehalose und Melezitose lassen sich dagegen durch Salzsäure nicht quantitativ in Monosen spalten, ohne daß größere Mengen von Reversions- und Abbauprodukten gebildet werden. Ausgehend von den Untersuchungen Hadorns haben wir 1 n Salzsäure zur Inversion verwandt und gefunden, daß bei Anwendung von 1 ml 1 n Salzsäure auf stets 6 ml Substanzlösung und bei 1stündiger Behandlung auf kochendem Wasserbad eine vollständige Inversion von Saccharose und Maltose erreicht werden kann. Fructose wurde nur 30 min lang behandelt. Anschließend wurde das Hydrolysat mit 1 ml 1 n Natronlauge auf p_H 7 neutralisiert.

Da die Hydrolysebedingungen nicht genügend konstant gehalten werden können und eine dauernde Prüfung während der Säurebehandlung unmöglich ist, kamen wir nur dann zu einer guten Reproduzierbarkeit der Werte, wenn zu jedem Ansatz von Fructose, Saccharose und Maltose die entsprechenden Vergleichsreihen mithydrolysiert wurden.

VII. Fehler und Grenzen der Zuckerbestimmung

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden von jeder Pflanzenprobe 4 Parallelbestimmungen durchgeführt. Die in der Extraktion, papierchromatographischen Trennung und Elution der Zucker

liegenden Fehler betrugen im Mittel $\pm 2\%$. Die chromatographische Bestimmung der Zucker unter Einschluß der Hydrolyse erfolgte in 2 Parallelanalysen. Die Fehlergrenze dieses Teils der Analyse lag im Mittel bei $\pm 1\%$.

Es bedarf keiner besonderen Begründung, daß nach dem empfindlichen und genau arbeitenden Verfahren der Papierchromatographie nur solche Zucker identifiziert und quantitativ bestimmt werden können, die auch als Vergleichszucker zur Verfügung stehen. Aus diesem Grunde kann die Mehrzahl der höheren Saccharide papierchromatographisch noch nicht erfaßt werden. Untersuchungen in dieser Richtung werden zur Zeit von uns durchgeführt.

Ebenfalls ist eine Gesamtzuckerbestimmung nur dann möglich, wenn es gelingt, neben den einfachen Zuckern durch gezielte Hydrolyse auch die höheren Saccharide auf Glucosebasis zu erfassen. Diese Voraussetzung kann aber heute noch nicht als voll erfüllt angesehen werden.

Arbeitsvorschrift

I. Ernte und Aufbereitung

A. Grüne Pflanzen. *1. Aufbereitung mit Äthylalkohol.* Die zu untersuchende grüne Pflanzenprobe wird unmittelbar nach der Ernte in Bechergläsern im Homogenisator unter Zusatz einer Spatelspitze Magnesiumcarbonat zerkleinert, in 100—200 ml-Erlenmeyer-Kölbchen gegeben und Messer und Homogenisatorglas mehrmals gründlich mit 70%igem Alkohol nachgespült. Die Kölbchen werden mit Gummistopfen verschlossen und mit heißem Paraffin abgedichtet*.

Die Proben werden bis zur Weiterverarbeitung im Kühlschrank bei +4° C aufbewahrt.

2. Aufbereitung durch Trocknung. Die geerntete frische Pflanzenmasse wird in Beuteln aus Gaze oder Nessel gewogen und anschließend im Frischlufttrockenschrank bei 65° C getrocknet. Das trockene Material zerkleinert man in Beuteln grob mit der Hand. Anschließend wird es in einer Kolloidmühle im Achatbecher mit zwei Achatkugeln pulverfein zermahlen. Von Zeit zu Zeit wird der Mahlgang unterbrochen und das bereits feine Mahlgut durch ein 1 mm-Sieb von den noch größeren Teilen, die erneut indie Mühle zurückgegeben werden, getrennt. Anschließend wird die gesamte Substanz gut durchgemischt. Eine Erwärmung des Gutes während des Mahlens ist nicht zu beobachten. Die fein gemahlene Substanz wird in Erlenmeyer-Kölbchen nochmals 1 Std im Trockenschrank bei 60° C erhitzt. Die Kölbchen werden dann mit Gummistopfen verschlossen, mit heißem Paraffin abgedichtet und kühl aufbewahrt (vgl. Fußnote*).

B. Samen, Früchte, Knollen u. ä. *1. Aufbereitung durch Trocknung. Getreide.* Nach dem Drusch werden Durchschnittsproben nach Lenkheit u. Becker[25] genommen,

* Die Proben können auch in Weckgläsern mit $^1/_4$ l oder größerem Volumen aufbewahrt werden. Das vorbereitete Material wird in die Gläser gegeben, der Ring aufgelegt und der Deckel mittels einer Klammer befestigt. Anschließend wird in einer Gefriertrocknungsanlage die im Glas befindliche Luft abgesaugt (Wasserstrahl- oder Vakuumpumpe). Die Klammer kann dann entfernt werden. Der Inhalt der Gläser bleibt für lange Zeit haltbar. Leicht können zwischendurch Proben entnommen und die Gläser anschließend wieder verschlossen werden.

die Proben in Beuteln aus Gaze oder Nessel 4 Std im Frischlufttrockenschrank bei 60° C erhitzt. Die Weiterbehandlung erfolgt, wie unter A. 2. aufgeführt.

2. Aufbereitung durch Gefriertrocknung. Blätter, Rüben, Kartoffeln u. a. Man zerkleinert die frisch geernteten Pflanzenteile im Fleischwolf als Ganzes oder nimmt von Knollen und Rüben eine Durchschnittsprobe, indem man sie mit einem 2 cm-Bohrer mehrmals längs und quer durchbohrt. Man gibt einige Tropfen 70%igen Alkohol auf die Proben, um ein Schwarzwerden der Oberfläche zu verhindern. Die Proben werden unmittelbar darauf mit Kohlensäureschnee eingefroren und auf eine Restfeuchtigkeit von etwa 0,2% gefriergetrocknet*. Die getrockneten Substanzen werden — wie beschrieben — in Erlenmeyer-Kolben oder Weckgläsern kühl aufbewahrt (vgl. Fußnote auf S. 331).

II. Extraktion

Je nach Zuckergehalt wird eine entsprechende Menge des konservierten Materials in die Hülsen gegeben (z. B. bei Runkeln 2 g, bei Roggen 10 g trockenes Material). Anschließend wird der Holzstab mit den daran befestigten Fritten aufgelegt (siehe Abb. 1 u. 2, S. 323). Je nach der Größe des Apparates werden verschiedene Mengen doppelt dest. Äthylalkohol eingefüllt.

Wir benötigten:

Im 1. Extrakt: ungefähr 25 ml 90%igen Alkohol
Im 2. Extrakt: ungefähr 25 ml 80%igen Alkohol
Im 3. Extrakt: ungefähr 25 ml 60%igen Alkohol
Im 4. Extrakt: ungefähr 25 ml 40%igen Alkohol
Im 5. Extrakt: ungefähr 25 ml 20%igen Alkohol.

Unmittelbar nach Zugabe der Alkoholmenge wird der Gasstrom eingestellt und die Heizung in Betrieb genommen. Nach jeweils 15 min wird der Heizstrom unterbrochen und die Flüssigkeit in 150 ml-Bechergläser abgelassen, die Hülsen werden anschließend zur 2. Extraktion mit etwa 25 ml 80%igem Alkohol gefüllt, worauf man den Vorgang entsprechend wiederholt. Nach der 5. Extraktion werden die Bechergläser entfernt. Anschließend wird dest. Wasser in die Hülsen gegeben, nach 10 min Extraktion wird die Flüssigkeit in leere Bechergläser abgelassen. In diesem Extrakt wird mit Hilfe der α-Naphtholprobe** auf etwa noch vorhandene Zucker untersucht. Ist die Reaktion positiv, wird die Extraktion der betreffenden Probe wiederholt. Mit Hilfe eines Drahthäkchens lassen sich die Hülsen leicht aus der Apparatur entfernen. Die Glasbehälter und Fritten werden gründlich mit dest. Wasser und Alkohol gereinigt und zur neuen Extraktion vorbereitet.

III. Reinigung und Einengen der Extrakte

Die Extrakte werden auf quantitative Aktivkohlefilter (Fa. Schl. & Sch.) gegeben, in 250 ml fassenden Hartglasdestillier-Rundkolben aufgefangen, die Bechergläser werden mehrmals mit dest. Wasser nachgespült. (Da das Filtrieren sehr langsam verläuft, ließen wir die Extrakte zumeist über Nacht durchlaufen.) Nach beendeter Filtration werden die Filter mindestens 3 mal gründlich mit dest. Wasser nachgewaschen. Zur Kontrolle wird das letzte Filtrat mit Hilfe der α-Naphtholprobe auf Zucker geprüft.

* Ebenso kann das Material unmittelbar nach der Ernte zunächst tief eingefroren (unter —20° C) und zu einem späteren Zeitpunkt dann im Fleischwolf (in gefrorenem Zustand möglichst im Kühlraum) zerkleinert werden. Ein aliquoter Teil davon wird gefriergetrocknet.

** Die α-Naphtholprobe wird nach Molisch-Udransky[28] ausgeführt. Der Nachweis ist für Kohlenhydrate spezifisch. Konzentrationen von weniger als 0,01% Zucker werden noch sicher erfaßt (Ringbildung).

Die filtrierten Extrakte werden in einer Destillationsapparatur bei 25—29° C im Vakuum einer Wasserstrahlpumpe bis auf 2—3 ml eingeengt (Dauer etwa 2—3 Std). Die Apparatur trägt eine dickwandige Capillare, deren Spitze wenige Millimeter über dem Kolbengrund stehen soll. Nach Abnahme der einzelnen Kolben werden die Capillaren sorgfältig mit dest. Wasser abgespült. Der Inhalt der Kolben wird je nach Zuckerkonzentration in ein 10 ml, auch 20 oder 25 ml fassendes Meßkölbchen übergespült, der Kolben mindestens 3mal mit je 1—2 ml 40%igem Alkohol nachgespült. Nach völligem Erkalten wird das Meßkölbchen mit 40%igem Alkohol auf genau 10 ml aufgefüllt, mit einem Glasstopfen verschlossen und anschließend gut durchgemischt.

Nach längerem Stehen der Extrakte bildet sich mitunter in einigen Kölbchen ein Niederschlag, der jedoch die quantitative Bestimmung der Zucker nicht beeinträchtigt.

IV. Papierchromatographische Trennung

Zur chromatographischen Zuckertrennung ist das Papier der Fa. Schl. & Sch. Nr. 2043b Mgl in der Standardgröße von 60×25 mm besonders gut geeignet. Damit ein gleichmäßiger Durchlauf der Lösungen auf dem Papier gewährleistet ist,

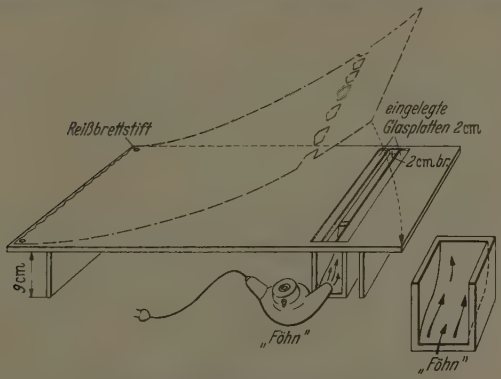

Abb. 7. Chromatographiertisch, Tischfläche 45×65 cm

wird der untere Rand der Bogen gezahnt. Die Bogen werden mit Reißnägeln auf einem zu diesem Zweck angefertigten Chromatographiertisch befestigt (Abb. 7). 12 cm vom oberen Rand entfernt wird mit Bleistift eine Startlinie gezogen; die Startpunkte der Extrakte werden in Abständen von 4 cm aufgetragen und dabei ein Seitenrand von 2,5 cm freigelassen. Je Startpunkt werden 2 Tropfen einer 1%igen Vergleichszuckerlösung in 40%igem Alkohol oder eines entsprechend konzentrierten Gemisches von Substanzzuckern mit einer Mikro-Laborpipette (Fortuna) aufgetragen. Um für eine gute Trennung möglichst kleine Startflecken zu erhalten, wird jeder Tropfen mit einem Föhn eingetrocknet. Als Chromatographiekästen verwenden wir Behälter der Zentralwerkstatt Göttingen, ebensogut eignen sich Vollglaskästen (Fa. Krannich, Göttingen). Durch einen Schaumgummiring mit daraufliegendem Glasdeckel und einem Stahlrahmen darüber mittels 4 Spiralfedern an den Kastengriffen befestigt, kann der Kasten luftdicht verschlossen werden. In der Mitte des Kastendeckels befindet sich eine Bohrung, in die ein Scheidetrichter mittels eines Gummistopfens eingesetzt wird. Auf dem

Boden des Kastens werden in 2 großen Petri-Schalen die obere und die untere Phase des Lösungsmittels getrennt aufgestellt. Nach 24 Std werden die zur Trennung vorbereiteten Bogen in den Kasten gehängt, nachdem diese 7 cm unterhalb des oberen Randes umgeknickt worden sind, wobei ein Glasstab als Papierträger fungiert. Nach 12stündiger Gassättigung der Papiere wird die abgetrennte obere Phase eines neuen Lösungsmittelansatzes durch den Scheidetrichter in den Trog gelassen, ohne erneut den Kastendeckel abzuheben. (Zusammensetzung des Lösungsmittelgemisches: Eisessig—Essigester—Wasser im Verhältnis 2:4:6.) Je 4 Papierbogen finden in einem Kasten Platz, und zwar je 2 am Trog beiderseitig hängend, ohne sich oder die Kastenwände zu berühren. Für die einwandfreie Trennung ist die Beschaffenheit der Trägerstäbe entscheidend. Kleine Unebenheiten oder geringfügiges Durchbiegen der Glasstäbe verursachen schrägen oder gebogenen Verlauf der Lösungsmittelfront und damit auch der Zucker. Trog und Glasstäbe sowie der Kasten selbst sind zuvor mit einer Wasserwaage auf ihre horizontale Lage hin zu prüfen. Nach etwa 36 Std Laufzeit werden die Papiere aus dem Kasten entfernt und an der Luft getrocknet.

Die Temperatur im Chromatographieraum (25° C) wird am besten durch einen Heizofen mit Ventilator über ein Kontaktthermometer geregelt. Die Kästen stehen auf Holzleisten, um der Warmluft von allen Seiten Zutritt zu gewähren.

Qualitativer Nachweis der Zucker. Die fertigen Chromatogramme werden mit Anilinphthalat besprüht[6]. Nach Cramer ist das Reagens nur für den farbigen Nachweis von Aldosen geeignet. Wir konnten den Nachweis mit Anilinphthalat auch auf Ketosen ausdehnen, wenn die besprühten Papiere im Trockenschrank 30 min bei einer Temperatur von maximal 140° C behandelt wurden. Die Farbunterschiede der einzelnen getrennten Zucker gehen bei der abgeänderten Behandlung allerdings weitgehend verloren. Das stört den Nachweis jedoch nicht, da die Identifizierung durch Vergleichszucker vorgenommen wird. Erspart wird dadurch die zeitraubende getrennte Sichtbarmachung von Aldosen und Ketosen.

Quantitative Bestimmung der Zucker. Auf der Startlinie der Papierchromatogramme werden mit Hilfe einer Schablone und einer Rasierklinge Brücken nach Schwerdtfeger geschnitten und auf die inneren Startpunkte die Substanzzucker in entsprechender Menge nach Einwaage und Konzentration aufgetragen. Die geeignete Konzentration wird jedesmal vorher im Konzentrationsvergleich ermittelt. Außerdem wird auf jede Seite ein Gemisch von 6 Standardzuckern aufgebracht.

Die Vorbereitung der Papiere und die anschließende Trennung wird wie bei der qualitativen Analyse ausgeführt. Unmittelbar nach der Lufttrocknung werden die Papierstreifen in einen alten, als Vorratsbehälter dienenden Chromatographiekasten zur Aufbewahrung gehängt, wobei oben im Kasten auf 2 an den schmalen Seitenwänden angebrachten Holzleisten 5 Glasstäbe ruhen, die insgesamt 10 Papierstreifen aufnehmen können, ohne daß diese sich gegenseitig berühren. Selbst bei Aufbewahrung der Streifen über einen Zeitraum von 1 Woche sind keine meßbaren Veränderungen der getrennten Substanzen eingetreten. Der Vorratskasten befindet sich im Chromatographieraum.

Zur Identifizierung der Zucker werden schmale senkrechte Streifen beiderseits der mittleren Startpunkte vom Chromatogramm abgeschnitten und mit Anilinphthalat gefärbt. (Maltose färbt sich in kleinen Konzentrationen wesentlich langsamer als die übrigen Zucker!) Die Flecken, von denen je einer einem Substanzzucker (der innere) und einem Vergleichszucker entspricht, werden mit einem Bleistift umrandet und dann die Streifen mit Heftklammern wieder genau an das Chromatogramm angefügt. Man verbindet durch waagerechte Bleistiftlinien jeweils die angefärbten Zucker einer Art. Als Hilfslinie zur Identifizierung der nicht gefärbten Zucker wird eine vom Startpunkt aus senkrechte Linie gezogen. Die

Kreuzung beider Geraden bezeichnet die Lage der nicht gefärbten Substanzen[6]. Mit Hilfe eines kleinen, selbst gefertigten Pappstempels werden die Zucker in gleichgroßen Stückchen aus dem Papier herausgeschnitten.

V. Elution

Die herausgeschnittenen Papierstücke werden auf Uhrgläsern in kleine Streifen von etwa 5×25 mm vorsichtig zerschnitten und mit einer Pinzette in je ein Eluiergefäß eingebracht. Man gibt mit einer Pipette 2 ml siedendes Wasser in jedes Eluierglas. Darauf wird der Gasstrom angestellt und die Bläschenbildung mit Hilfe der Quetschhähne in allen Gefäßen gleichmäßig geregelt. Man überzeugt sich, daß alle Papierstückchen in den Eluiergefäßen von dest. Wasser bedeckt sind und vom Gasstrom leicht bewegt werden. Nach $^1/_4$ Std wird die Flüssigkeit mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe in die bezeichneten Colorimetergläser abgesaugt und die Elution zum 2. und 3. Male wiederholt. Der Gasstrom wird während der ganzen Zeit nicht unterbrochen. Nach beendeter Elution werden die Colorimeterröhrchen abgenommen und mit dest. Wasser auf genau 6 ml aufgefüllt (das ist möglich, da etwa 0,5 ml Wasser in dem Papierstreifen zurückbleiben).

An einem 4. Eluat wird mit Hilfe der α-Naphtholprobe die vollständige Elution der Zucker nachgeprüft. Bei positivem Ergebnis wird die Analyse wiederholt!*

VI. Chemische Bestimmung

Man gibt zu den Eluatlösungen je 1 ml 1 n Salzsäure, mischt gut durch und stellt 1 Std in ein kochendes Wasserbad. Darauf wird die Lösung in kaltem Wasser abgekühlt und mit 1 ml 1 n NaOH-Lösung (Fixanal) auf p_H 7 neutralisiert (Lyphanpapier).

Anschließend werden 8 ml Cu-Reagens nach Somogyi[42] zugegeben, die Lösungen gut durchgemischt und 10 min in ein stark kochendes Wasserbad gestellt. Wir verwenden zum Einstellen der Colorimetergläser Metallhalter, die je 6 Gläser fassen. Alle zu einem Ansatz gehörenden Gläser sollen gleichtief in das kochende Wasser eintauchen. Die Verwendung von Kondensationsröhrchen ist nicht erforderlich, wenn Schliffstopfen mit Tropfnippel benutzt werden. Nach Abkühlung erfolgt eine Zugabe von 4 ml Arsenmolybdatreagens (Nelson[30]). Der Inhalt wird gut durchgemischt, bis das Kupfer(I)-oxyd vollständig gelöst ist, anschließend wird mit Wasser auf 25 ml aufgefüllt. Die Extinktion der Farblösungen wird von uns bei der Wellenlänge von 740 mμ in einer Küvette von 0,25 cm gemessen. Die Extinktionen werden mit der jeweils mitbehandelten Vergleichsreihe verglichen (siehe Abb. 6, S. 330).

Es ist mit 4 Wiederholungen gearbeitet worden.

Zusammenfassung

Auf die methodischen Schwierigkeiten, die eine quantitative Bestimmung einzelner Zucker und die Bestimmung des Gesamtzuckergehaltes bis heute stark erschweren, wird kritisch eingegangen. Ziel der experimentellen Arbeiten war, die einzelnen Arbeitsgänge der quantitativen Zuckerbestimmung wie Konservierung, Extraktion, papierchromatographische Trennung, die Elution und den Nachweis der Zucker auf-

* Bei Stärkeabbauprodukten oder Oligosacchariden oberhalb der Maltose kann je nach Molekülgröße ein 4. und 5. Durchgang notwendig werden. Das ist bei Abstimmung der übrigen Reagentien des chemischen Nachweises ohne weitere methodische Änderung möglich.

einander abzustimmen, und die Gefahren der chemischen Veränderung von Pflanzenzuckern während der Analyse möglichst weitgehend herabzusetzen. Selbst konstruierte Geräte zur Extraktion und Elution der Zucker werden beschrieben und ihre Eignung als Hilfsmittel zur quantitativen papierchromatographischen Analyse von Sacchariden nachgewiesen.

Literatur

[1] Amberger, A.: Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **66** (111), 211 (1954). — [2] Bell, D. J.: in Paech, K., and M. V. Tracey [32], S. 16. — [3] Bevenue, A., K. T. Williams and B. Waschauer: J. Assoc. off. agric. Chemists **33**, 986 (1950). — [4] Borel, E., F. Hostettler u. H. Deuel: Helv. chim. Acta **35**, 115 (1952); vgl. diese Z. **139**, 53 (1953). — [5] Consell, J. N., C. Haugh and W. H. Wademann: Research **1951**, 4/143. — Sugar Ind. Abstr. **13**, 13 (1951). — [6] Cramer, F.: Papierchromatographie, 3. Aufl., S. 69. Weinheim: Verlag Chemie 1954. — [7] Dedonder, R.: in Paech, K., u. M. V. Tracey [32], S. 20. — [8] Dent, C. E.: Biochemic. J. **41**, 240 (1947). — [9] Dimler, R. J., W. C. Schaefer, C. S. Wise and C. E. Rist: Analyt. Chemistry **24**, 1411 (1952); vgl. diese Z. **140**, 203 (1953). — [10] Dubois, M., K. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith: Nature (London) **168**, 167 (1951); vgl. diese Z. **136**, 142 (1952). — [11] Fischer, F. G., u. H. Dörfel: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **297**, 164 (1954); vgl. diese Z. **148**, 310 (1955/56). — [12] Flood, A. E., E. L. Hirst and J. K. N. Jones: J. chem. Soc. (London) **1948**, 1679. — [13] Gaillard, B. D. E.: Pharmac. Weekbl. **88**, 629 (1954). — [14] Hadorn, H.: Mitt.Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **43**, 211 (1952). — [15] Heinze, P. H., and A. E. Murneck: Res. Bull., 314, Univ. of Missouri, Coll. of Agric., Exp. Station, März 1940. — [16] Hirst, E. L., and K. J. N. Jones: Advances Carbohydrate Chem. **2**, 235 (1946). — Discuss. Faraday Soc. **7**, 268 (1949). — [17] Hofmann, E., u. H. Nolte: Brauwissenschaft **9**, 2 (1953). — [18] Jacob, A., u. F. Alten: Arbeiten über Kalidüngung, Reihe III, S. 211. Berlin: Verlagsges. f. Ackerbau 1942. — [19] Jones, K. J. N., and I. B. Pridham: Nature (London) **172**, 161 (1953). — [20] Klein, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse, S. 770ff. Wien: Springer-Verlag 1932. — [21] Kruisheer, C. I.: Z. Unters. Lebensmittel **58**, 270 (1929); vgl. diese Z. **82**, 326 (1930). — [22] Laidlaw, R. A., and S. G. Reid: Nature (London) **166**, 476 (1950). — [23] Laidlaw, R. A., and C. B. Wylam: J. Sci. Food Agric. **3**, 49 (1952). — J. chem. Soc. (London) **1953**, 568. — [24] Lehmann, O.: Planta **13**, 575 (1931). — [25] Lenkheit, W., u. M. Becker: Praktikum der Ernährungsphysiologie der Haustiere, 8.—9. Aufl. Göttingen: Verlag Vandenhoeck u. Ruprecht 1949. — [26] Linskens, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik, S. 54. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer-Verlag 1955. — [27] Löhr, E.: Physiologia Plantarum **6**, 529 (1953). — [28] Molisch-Udransky: in Klein, G. [20], S. 775. — [29] Müller, K.: Diss. Göttingen 1957. — [30] Nelson, N.: J. biol. Chemistry **153**, 375 (1944). — [31] Neumann, K.: Grundriß der Gefriertrocknung, 2. Aufl., S. 130. Göttingen: Musterschmidtverlag 1955. — [32] Paech, K., and M. V. Tracey: Modern Methods of Plant Analysis, Vol.II. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer-Verlag 1955. — [33] Partridge, S. M.: Biochemic. J. **42**, 238 (1948). — [34] Pigden, W. J.: Canadian J. agric. Sci. **33**, 364 (1953). — [35] Reifer, I., and J. Melville: Proc. 11th Congr. pure appl. Chem. **3**, 223 (1947). — [36] Röttgers, H.: Lehrbuch der Nahrungsmittelchemie, Bd. 1, 5. Aufl., S. 885. Leipzig 1926 (Gesetze u. Verordnungen, Beilage zu Z. Unters. Lebensmittel **16**, 49 (1924). — [37] Schneider, F., u. G. Erlemann: Zucker-Beih. H. **3** (1951). — [38] Schoch, W.: Mitt.Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **42**, 242 (1951). — [39] Schulz, H. G.: Pers. Mitt., Agrik.-chem. Inst., Univ. Göttingen. — [40] Schweizer Lebensmittelbuch, 4. Aufl.

S. 166. Bern 1937. — [41] Schwerdtfeger, E.: Naturwissenschaften **41**, 18 (1954); vgl. diese Z. **143**, 288 (1954). — [42] Somogyi, M.: J. biol. Chemistry **160**, 61 (1945); vgl. auch diese Z. **135**, 386 (1952). — [43] Somogyi, M.: J. biol. Chemistry **160**, 69 (1945). — [44] Somogyi, M.: J. biol. Chemistry **195**, 19 (1952); vgl. diese Z. **138**, 294 (1953). — [45] Spöhr, L.: The Carbohydrate Economy of Cact. Washington 1919. — [46] Täufel, K., u. R. Reiss: diese Z. **134**, 252 (1951/52). — [47] Thomas, J. W., C. G. Melin and L. A. Moore: Analyt. Chemistry **21**, 1363 (1949); vgl. diese Z. **134**, 59 (1951/52). — [48] Wallenfels, K.: Naturwissenschaften **37**, 491 (1950); vgl. diese Z. **135**, 201 (1952). — [49] Wanner, H.: Ber. Schweiz. bot. Ges. **62**, 205 (1952). — [50] Wanner, H.: Helv. chim. Acta **35**, 460 (1952); vgl. diese Z. **138**, 454 (1953). — [51] Williams, K. T., and A. Bevenue: J. Assoc. off. agric. Chemists **34**, 817 (1951). — [52] Williams, K. T., and A. Bevenue: Western Atitication Res. Branch, Agric. Res. Serv., U.S. Dep. Agric. Albany, Cal. — [53] Wylam, C. B.: J. Sci. Food Agric. **4**, 527 (1953).

Prof. Dr. F. Scheffer, Göttingen, Nikolausbergerweg 7
Prof. Dr. E. Welte, Hannover-Kirchrode, Bünteweg 8
Dr. H. Müller, Hannover-Kirchrode, Bünteweg 8

Aus dem Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover
und dem Chemischen Laboratorium der 2. Medizinischen Universitätsklinik München

Charakterisierung von komplizierten Naturstoffgemischen durch simultane mehrdimensionale Papierchromatographie

Von
P. Decker* und K. Kikodse**

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. September 1958)

Sollen in einem Gemisch papierchromatographisch mehr als etwa 20 Substanzen erfaßt werden, so liefert das zweidimensionale Verfahren infolge teilweiser Überdeckung der Flecken und anderer Störungen meist keine gesicherten Ergebnisse mehr. Wir berichteten vor einigen Jahren über eine papierchromatographische Methode, die „mehrdimensionale Papierchromatographie", die ein allgemein anwendbares Verfahren zur Entwirrung solcher Gemische darstellt[1].

Wie dort ausgeführt worden ist, läßt sich ein mehrdimensionales Verfahren auf zwei verschiedene Arten durchführen. Man arbeitet erstens in der Weise, daß ein Gemisch zunächst eindimensional getrennt, die Fraktionen isoliert und jeweils für sich getrennt weiter fraktioniert werden. Für dieses „sukzessive" Verfahren wird eine Methodik zur Anreicherung von durch präparative eindimensionale Papierchromatographie

* Habilitationsschrift Tierärztliche Hochschule, Hannover 1957, Auszug.
** Dissertation, Medizinische Fakultät der Universität München 1958.

getrennter Fraktionen angegeben[2]. Es läßt sich auch in Kombination mit allen anderen Fraktionierungsverfahren, z. B. Säulenchromatographie, anwenden und kann auch mikropräparativen Zwecken dienen.

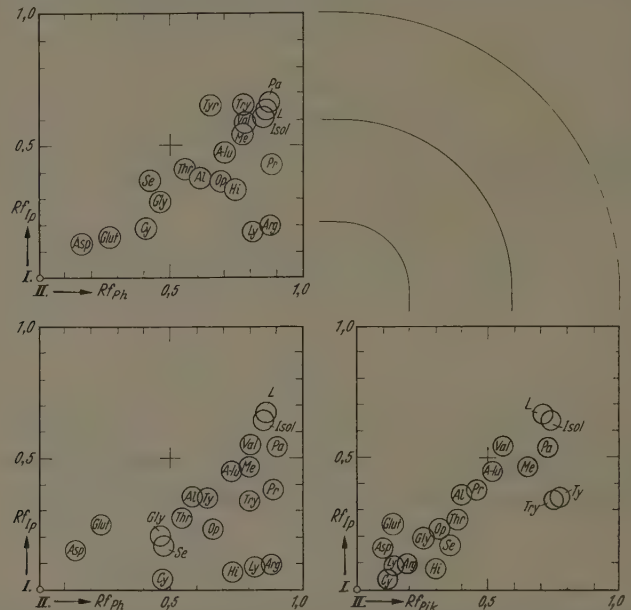

Abb. 1. Dreidimensionale Papierchromatographie der Aminosäuren Alanin (*Al*), Aminobuttersäure (*A-bu*), Arginin (*Arg*), Asparaginsäure (*Asp*), Cystin (*Cy*), Glutaminsäure (*Glut*), Glykokoll (*Cly*), Histidin (*Hi*), Isoleucin (*Isol*), Leucin (*L*), Lysin (*Ly*), Methionin (*Me*), Hydroxyprolin (*Op*), Phenylalanin (*Pa*), Prolin (*Pr*), Serin (*Se*), Threonin (*Thr*), Tryptophan (*Try*), Tyrosin (*Ty*) und Valin (*Val*). Drei zweidimensionale Papierchromatogramme mit den drei Kombinationen der drei Lösungsmittelgemische: Phenolum liquidum-Phenolwassergesättigt (Atmosphäre HCN- und NH_3-haltig) (3 : 7) [Ph], Picolin-Ammoniak-Wasser (70 : 2 : 28) [Pic] und Isopropylalkohol-Eisessig-Wasser (7 : 2 : 1) [Ip][1]

Während dieses Verfahren, da die Arbeitsgänge hintereinander durchgeführt werden, relativ zeitraubend ist, beruht das zweite mehrdimensionale Verfahren, welches wir als „simultane mehrdimensionale Papierchromatographie" bezeichnen, auf der gleichzeitigen Herstellung zweidimensionaler Papierchromatogramme mit mehreren Kombinationen verschiedener Lösungsmittel. Durch die so gewonnenen zweidimensionalen Projektionen des mehrdimensionalen Systems kann dieses ebenso erschöpfend erfaßt werden, wie etwa ein dreidimensionaler Körper durch Grundriß, Aufriß und Querschnitt.

Unter Verwendung der drei Kombinationen von je drei Lösungsmitteln wurde 1951 ein Verfahren zur sicheren Identifizierung der Aminosäuren angegeben (Abb. 1)[1].

Im Verlaufe von Untersuchungen über aromatische und heterocyclische Harninhaltsstoffe stießen wir auf derart komplizierte Gemische, daß wir uns veranlaßt sahen, das Verfahren nunmehr auch mit den sechs Kombinationen von vier Lösungsmitteln vierdimensional anzuwenden. Mit den vier Lösungsmitteln (I—IV, siehe Abb. 3, S. 341) wurden in folgender Reihenfolge der 1. und 2. Dimension zweidimensionale Papierchromatogramme hergestellt:

A: I/II; B: I/III; C: I/IV; D: III/II; E: IV/II; F: III/IV.

Zur Auswertung werden die sechs zweidimensionalen Papierchromatogramme gemäß Schema Abb. 2 so gelegt, daß jeweils Lösungsmittel I und Lösungsmittel II auf drei neben- bzw. untereinanderliegenden Bögen in der gleichen Richtung gelaufen ist, so daß die R_f-Werte gemäß den durchzogenen Hilfslinien korrespondieren. Um auch Lösungsmittel III und Lösungsmittel IV in den drei diese enthaltenden Kombinationen parallel nebeneinander in der gleichen Richtung zu haben, muß man das linke und obenliegende Papierchromatogramm jeweils um 90° um die rechte untere Ecke nach links bzw. rechts gekippt denken. Dies wird im Diagramm (Abb. 2) durch die Kreisbögen der Hilfslinien angedeutet. Die Hilfslinien stellen die Orte aller Substanzen dar, die in den rechtwinklig zu ihnen gelaufenen Lösungen gleiche R_f-Werte aufweisen. Die Tatsache, daß R_f-Werte in der Praxis ein wenig streuen, deuten wir in dem Schema dadurch an, daß die Hilfslinien beim Übergang von einem Papierchromatogramm zum nächsten entsprechend versetzt gezeichnet sind, ausweislich markanter und unverwechselbarer Leitsubstanzen, an welchen es in biologischen Gemischen in der Regel nicht fehlt.

Auf diese Weise erscheint jede der Substanzen auf insgesamt sechs zweidimensionalen, unabhängigen Papierchromatogrammen mit jeweils verschiedenen Lösungsmittelkombinationen. Der R_f-Wert in jedem Lösungsmittel kann dabei jeweils aus drei verschiedenen Papierchromatogrammen entnommen werden, an denen das betreffende Lösungsmittel in Kombination mit jeweils einem anderen der drei übrigen beteiligt ist.

Durch diese sechsfache, in immer neuen Kombinationen sich wechselseitig kontrollierende Information kann auch in sehr komplizierten Gemischen jede Substanz mit großer Sicherheit bezüglich ihrer Individualität und ihrer R_f-Werte erfaßt werden. In der Sprache der Informationslehre ausgedrückt wird so eine erhöhte Redundanz der entnommenen Information erzielt.

Es werden auf diese Weise weitaus besser gesicherte Ergebnisse erzielt als etwa durch sechsfache Wiederholung eines zwei- oder gar eindimensionalen Papierchromatogramms. Durch Wiederholung werden nämlich nur Fingerabdrücke und ähnliche „Phantome" eliminiert, während alle systematischen, dem jeweiligen Fall eigenen Unvollkommenheiten sich

unverändert wiederholen. Dazu gehört die gegenseitige Überdeckung zweier Substanzen und die Beeinflussung der R_f-Werte durch benachbart liegende Ballaststoffe, die besonders in eindimensionalen Papierchromatogrammen sehr störend ist, aber auch in zweidimensionalen oft genug

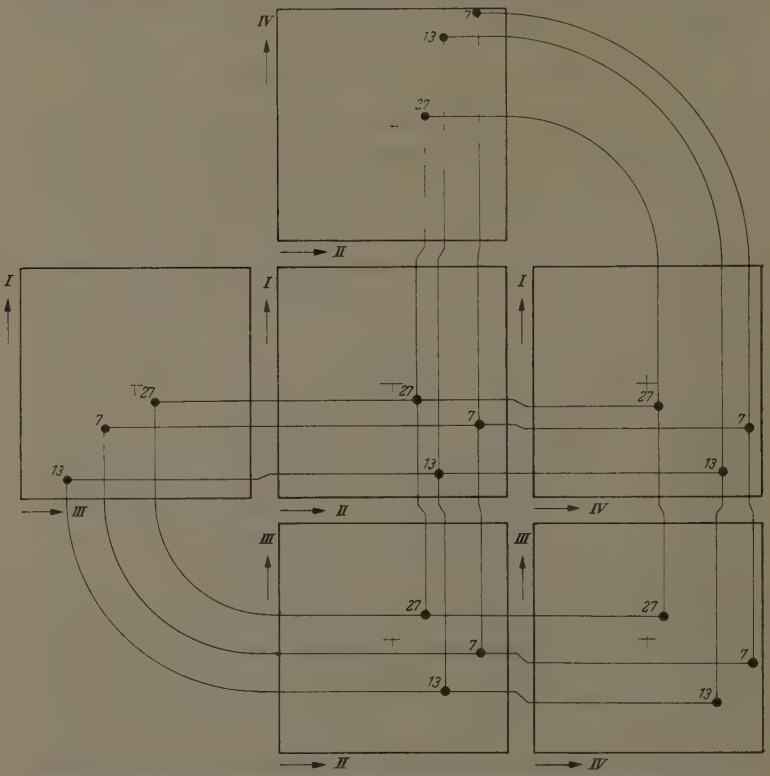

Abb. 2. Zuordnungsschema zum Vorgang der simultanen mehrdimensionalen Papierchromatographie mit vier Dimensionen, d. h. den sechs zweidimensionalen Kombinationen der Lösungsmittelgemische *I*—*IV* mit je sechsfacher Sicherung der Individualität und je dreifacher unabhängiger Sicherung der R_f-Wertbestimmung für jede Substanz. Die Hilfslinien stellen den Ort aller Substanzen dar, die in dem im rechten Winkel zu ihnen gelaufenen Lösungsmittel gleiche R_f-Werte zeigen. R_f-Wertabweichungen zwischen den einzelnen Papierchromatogrammen bedingen kleine Versetzungen der Hilfslinien

vorkommt. Schließlich gehören dazu systematische Verzerrungen bei zweidimensionalen Papierchromatogrammen durch den vom ersten Lösungsmittel hochgetriebenen Schlierenrand.

Auch wenn in einem oder mehreren der sechs Papierchromatogramme infolge Störung oder Überdeckung eine Substanz nicht identifizierbar ist,

gelingt unter Zuhilfenahme der übrigen Papierchromatogramme meist immer noch eine ausreichende Charakterisierung. Nur wenn der seltene Fall eintritt, daß in allen drei, ein und dasselbe Lösungsmittel enthaltenden Kombinationen die Erkennung einer Substanz unmöglich ist, kann

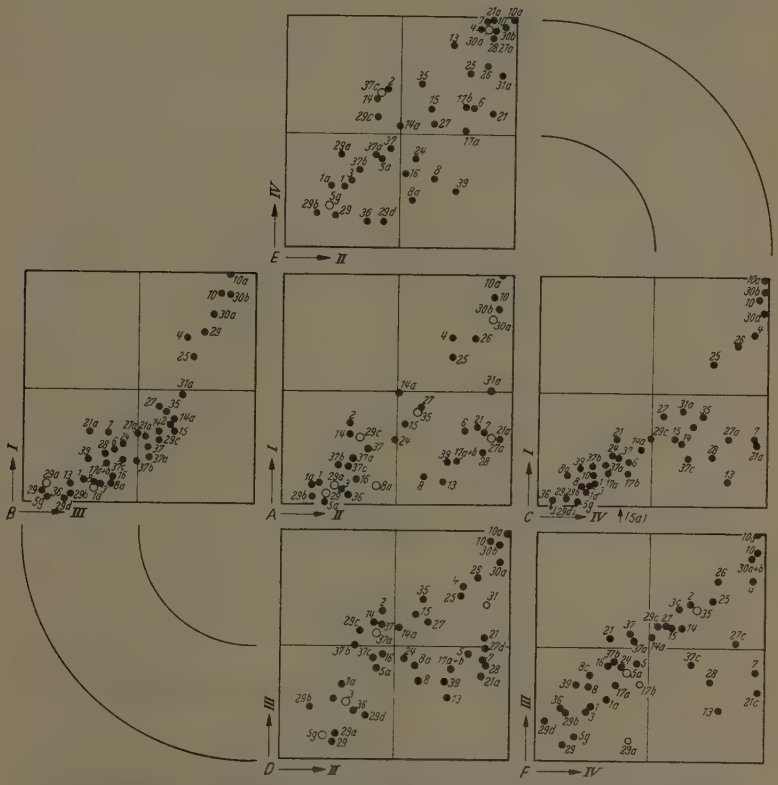

Abb. 3. Simultane vierdimensionale Papierchromatographie von Konzentraten aus vier pathologischen Harnen (aromatische Inhaltsstoffe, u. a. Indolderivate, Farbreaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd)

eine R_f-Wertbestimmung in dem betreffenden Lösungsmittel nicht durchgeführt werden. Dieser Fall tritt bei dem unten als Beispiel angeführten Gemisch aus über 40 Harninhaltsstoffen (Abb. 3) zweimal auf (bei Nr. 5a und 29d).

Abb. 3 zeigt als Beispiel die Charakterisierung von insgesamt 42 aromatischen und heterocyclischen Substanzen aus 4 pathologischen Harnen,

welche blaue, gelbe oder rote Farbreaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd geben. Über die Identifizierung einiger von ihnen wird an anderer Stelle berichtet.

Auf die gleiche Weise kann man Diagramme von zweidimensionalen Papierchromatogrammen in zwei Lösungsmitteln a und b, die z.B. von anderen Arbeitsstellen publiziert werden, an die im eigenen Laboratorium für zweidimensionale Papierchromatogramme benutzten Lösungsmittel c und d anschließen mit Hilfe des vollständigen vierdimensionalen Systems a/b, a/c, a/d, c/b, d/b und c/d.

Die Differenzierung nach vier R_f-Werten mit diesem Verfahren ist so eindeutig, daß auch dann kaum Überschneidungen auftraten, als wir die R_f-Werte auf ganze Zehntel abrundeten. Je vier solcher abgerundeten

Tabelle. *Kennzahlen aus abgerundeten R_f-Werten (mal 10[1]) in den Lösungsmitteln I—IV der Substanzen in Abb. 3 und einiger weiterer Stoffwechselprodukte der Indolessigsäure (Nr. 5b—f und 7a)*

X Verdeckt; *S* Streifen; *Z* R_f 0,95—1,00; abweichende Abrundung bei 0 (R_f 0,00 bis 0,03), 1 (R_f 0,04—0,13), 2 (R_f 0,14—0,23), 3 (R_f 0,24—0,34) und 9 (R_f 0,85 bis 0,95)

Kenn-Zahl	Nr. aus Abb. 3	Kenn-Zahl	Nr. aus Abb. 3	Kenn-Zahl	Nr. aus Abb. 3	Kenn-Zahl	Nr. aus Abb. 3
*X*322	5d	1321	36	2744	17a	3959	27a
*X*421	29d	1332	3	2745	17b	4477	2
*X*422	5e	1421	5b	2845	6	4565	14a
*X*444	5a	1443	16	2948	28	4577	35
0211	5f	1542	8a	2*SSZ*	7a	4666	27
0212	5g	1632	8	3365	29c	5976	31a
0311	5c	1728	13	3466	14	6878	25
1212	29	2353	37b	3544	24	7879	4
1222	29b	2447	37c	3666	15	7888	26
1233	1	2454	37a	393*Z*	21	897*Z*	30a
1233a	1a	2464	37	394*Z*	7	999*Z*	30b
1314	29a	2732	39	3955	21a	999*Z*a	10
						9*Z*9*Z*	10a

R_f-Werte bilden eine Kennzahl, welche jede der Substanzen weitgehend charakterisiert. Wie aus dem in der Tabelle so zusammengestellten Kennzahlenverzeichnis der in Abb. 3 dargestellten Substanzen und einiger weiterer Stoffwechselprodukte der Indolessigsäure zu ersehen ist, lassen sich durch solche vierstelligen Kennzahlen mit wenigen Ausnahmen, z. B. Nr. 1 und 1a, Nr. 30b und Nr. 10, die durch nachgestellte Buchstaben unterschieden werden müssen, sämtliche Substanzen eindeutig auseinander halten und im Falle der beiden Überschneidungen unterscheiden sich die Substanzen durch ihre Farbreaktion (blau und rot, bzw. gelb und blau). Dies ist durchaus erklärlich, da ein solches vierstelliges System über 10000 Plätze hat. Im Bedarfsfall ist es ohne weiteres möglich, in

entsprechender Weise fünfdimensional und fünfstellig mit über 100000 Plätzen zu arbeiten, wobei es dann auch möglich sein wird, einige der 10 Kombinationen der fünf Lösungsmittel ohne Nachteil wegzulassen. Bei der Auswahl der Lösungsmittel sollte jedoch, um zu befriedigenden Ergebnissen zu kommen (z. B. durch Einstellung des Wassergehaltes[3]), eine Verteilung der R_f-Werte über die ganze Skala erzielt werden und chemisch stark verschiedene Gemische verwandt werden. Das System B in Abb. 3 zeigt, wie in chemisch ähnlichen Gemischen (hier Butanol-Ammoniak und Isopropylalkohol-Ammoniak) alle Substanzen die Tendenz zeigen, sich längs einer etwa diagonalen Linie anzuordnen, so daß ein solches System sozusagen weniger neue Informationen einbringt, als die nach obiger Regel zusammengestellten.

Zur Dokumentation der Ergebnisse können Lochrandkarten Verwendung finden. Auf EKH-Karten Din A 5 (96 Lochpaare) lassen sich auf je 12 Lochpaaren für jedes Lösungsmittel (d. i. für jede Stelle der Kennzahl) die Ziffern 0—9, das Zeichen Z (siehe Tab.) und auf dem 12. Lochpaar die Zeichen X und S (siehe Tab.) unterbringen, so daß die R_f-Werte in sechs Lösungsmitteln (6stellige Kennziffern) Platz finden und noch 24 Lochpaare für allgemeine Angaben (Farbreaktionen, Herkunft) verbleiben. Wegen der Schwankungen der absoluten Beträge der R_f-Werte ist es zweckmäßig, die den gefundenen R_f-Werten entsprechenden Ziffern tief und die beiden benachbarten Ziffern flach auszulochen.

Literatur

[1] DECKER, P., W. RIFFART u. G. OBERNEDER: Naturwissenschaften **38**, 288 (1951). — [2] DECKER, P.: Naturwissenschaften **38**, 287 (1951). — [3] DECKER, P., u. W. RIFFART: Chemiker-Ztg. **74**, 261 (1950).

Doz. Dr. P. DECKER, Physiol. Inst., Tierärztliche Hochschule, Hannover, Hans-Böckler-Allee 16

Analytical Aspects of some Organic Acids

Part II*

Gravimetric Estimation of Zirconium by m-Phenylenedioxydiacetic Acid

By

C. S. PANDE and T. S. SRIVASTAVA

(Eingegangen am 18. September 1958)

In a previous communication of this series[2], a method for the estimation of zirconium by using o-phenylenedioxydiacetic acid has already been reported. The present communication deals with the use of m-phenylenedioxydiacetic acid as a new reagent for the estimation of zirconium. It has been

* Part I: See Z. analyt. Chem. **165**, 11 (1958).

observed that this reagent gives a flesh coloured curdy precipitate in the presence of ammonium nitrate, which is insoluble in water and easily washable. Zirconium is precipitated quantitatively with this reagent in nitric acid medium up to 0.10 N. Sulphuric and hydrochloric acids are not suitable media for the precipitation of zirconium. The precipitate has a variable composition, hence, it cannot be weighed directly as such. This difficulty has been overcome by igniting the precipitate and weighing as oxide.

Many metal ions e.g., Cu^{2+}, Be^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, UO_2^{2+} and Mn^{2+} are not precipitated with this reagent and, therefore, their separation is possible by single precipitation. Al^{3+}, Ce^{3+}, Th^{4+}, Cr^{3+} and Fe^{3+} ions also do not get precipitated under the condition in which zirconium is precipitated when present alone, free from zirconium ions. They are, however, coprecipitated to some extent in the presence of zirconium ions. But the quantity of this precipitation is small and the interference from these elements can easily be removed by double precipitation. Sn^{2+}, Sn^{4+}, $V_2O_2^{4+}$ and Th^{4+} ions interfere. Very small quantities of $V_2O_2^{4+}$ or Th^{4+} ions do not interfere.

Experimental

Reagents and Chemicals

Preparation of m-Phenylenedioxydiacetic Acid[1]. The reagent was prepared in the same way as the ortho-compound[2], proceeding from 1 Mol of resorcinol. The free acid on being recrystallised melted at 192° C.

Reagent Solution. A 2 percent solution of the acid in distilled water was used.

Standard Zirconium Solution, Solution of other Cations, and other Reagents see[2].

Analytical Procedure

Estimation of Zirconium. The zirconium solution was heated to boiling in a 250 ml pyrex beaker. Ammonium nitrate (5 g/100 ml of solution) was added. The hot solution of 2% m-phenylenedioxydiacetic acid was slowly added to this with constant stirring. The normality of nitric acid for final solution was adjusted at 0.08 N. The solution was slowly heated for a few minutes and the beaker was set aside in a warm place preferably over a water bath. When the precipitate settled down, it was filtered through a Whatman No.42 filter paper. The precipitate was washed with hot 0.1% solution of the above mentioned acid. It was dried and ignited to the oxide. Zirconium can easily be estimated quantitatively within the experimental error as it is seen from Table 1.

Effect of Hydrogen Ion Concentration

The media of sulphuric and hydrochloric acids are not suitable for the precipitation of zirconium. The nitric acid medium is suitable up to 0.10 N (see Table 2), but higher concentration of nitric acid dissolves the precipitate. The effect of hydrogen ion concentration on zirconium salt is shown by the results given in Table 2.

Separation from Foreign Ions

Separation from Fe^{3+} Ions. Fe^{3+} ions are not precipitated under the condition of zirconium precipitation when only these ions are present in the solution but are coprecipitated with zirconium when present along

Table 1. *Estimation of Varying Amounts of Zirconium by m-Phenylenedioxydiacetic Acid.*
Concentration of free acid = 0.08 N HNO_3

Expt. No.	ZrO_2 taken g	ZrO_2 found g	Error g
1.	0.0840	0.0840	± 0.0000
2.	0.0630	0.0632	+ 0.0002
3.	0.0525	0.0526	+ 0.0001
4.	0.0420	0.0422	+ 0.0002
5.	0.0315	0.0316	+ 0.0001
6.	0.0210	0.0210	± 0.0000
7.	0.0105	0.0105	± 0.0000
8.	0.0084	0.0085	+ 0.0001
9.	0.0063	0.0064	+ 0.0001
10.	0.0052	0.0054	+ 0.0002
11.	0.0042	0.0042	± 0.0000
12.	0.0031	0.0032	+ 0.0001

Table 2. *Estimation of Zirconium at Different p_H Values of the Solution.*
ZrO_2 taken = 0.0420 g

Expt. No.	Normality of free acid in zirconyl solution			ZrO_2 found g	Error g
	H_2SO_4	HCl	HNO_3		
1.	0.05	—	—	0.0410	— 0.0010
2.		0.05	—	0.0422	+ 0.0002
3.		0.10	—	0.0388	— 0.0032
4.			0.05	0.0422	+ 0.0002
5.			0.08	0.0421	+ 0.0001
6.			0.09	0.0419	— 0.0001
7.			0.10	0.0418	— 0.0002
8.			0.11	0.0414	— 0.0006
9.			0.12	0.0410	— 0.0010
10.			0.15	0.0398	— 0.0022
11.			0.20	0.0392	— 0.0028
12.			0.25	0.0386	— 0.0034

with the zirconium ions. Since the quantity of this coprecipitated iron compound is very small, it is easily removed by double precipitation. The results are given in Table 3 (p. 346) to justify the above statement.

Separation from other Cations. Zirconium is easily separated from a large number of cations e.g.: Cu^{2+}, Bc^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, UO_2^{2+}, and Mn^{2+} by single precipitation. Al^{3+}, Ce^{3+}, Ti^{4+}, and Cr^{3+} ions are separated by double precipitation. Sn^{2+}, Sn^{4+}, Th^{4+} and $V_2O_2^{4+}$ ions

interfere, but very small concentrations of Th^{4+} and $V_2O_2^{4+}$ ions have no effect. The results of estimation of zirconium in presence of foreign ions are given in Table 4.

Table 3. *Separation of Zirconium from Fe^{3+}-Ions.*
Concentration of free acid = 0.10 N HNO_3
ZrO_2 taken = 0.0420 g

Expt. No.	Ferric iron oxide added g	ZrO_2 found g	Error g
1 (a)	0.0420	0.0428	+ 0.0008
1 (b)	0.0420	0.0420 (D)	0.0000
2 (a)	0.0630	0.0433	+ 0.0013
2 (b)	0.0630	0.0421 (D)	+ 0.0001
3 (a)	0.0840	0.0440	+ 0.0020
3 (b)	0.0840	0.0422 (D)	+ 0.0002
	ZrO_2 taken = 0.0320 g		
4 (a)	0.0630	0.0335	+ 0.0015
4 (b)	0.0630	0.0322 (D)	+ 0.0002

(D) indicates double precipitation.

Table 4. *Separation from other Cations.*
ZrO_2 taken = 0.0420 g, Concentration of free acid = 0.08 N HNO_3

Expt. No.	Foreign ions added	g	ZrO_2 found g	Error g
1.	Cu^{2+}	0.3190	0.0421	+ 0.0001
2.	Be^{2+}	0.0720	0.0418	− 0.0002
3.	Mg^{2+}	0.1240	0.0420	± 0.0000
4.	Ca^{2+}	0.1428	0.0422	+ 0.0002
5.	Zn^{2+}	0.0402	0.0422	+ 0.0002
6.	Cd^{2+}	0.3500	0.0421	+ 0.0001
7 (a)	Al^{3+}	0.0530	0.0435	+ 0.0015
7 (b)	Al^{3+}	0.0530	0.0422 (D)	+ 0.0002
8 (a)	Ce^{3+}	0.0158	0.0430	+ 0.0010
8 (b)	Ce^{3+}	0.0158	0.0422 (D)	+ 0.0002
9 (a)	Ti^{4+}	0.0120	0.0436	+ 0.0016
9 (b)	Ti^{4+}	0.0120	0.0421 (D)	+ 0.0001
10.	Pb^{2+}	0.2373	0.0419	− 0.0001
11 (a)	Cr^{3+}	0.1306	0.0430	+ 0.0010
11 (b)	Cr^{3+}	0.1306	0.0421 (D)	+ 0.0001
12 (a)	UO_2^{2+}	0.1706	0.0422	+ 0.0002
12 (b)	UO_2^{2+}	0.1706	0.0420	± 0.0000
13.	Mn^{2+}	0.1845	0.0419	− 0.0001

(D) indicates double precipitation.

Double precipitation was carried out by dissolving the first precipitate on the filter paper by running through several times with nitric acid (1 : 1) and finally washing the filter paper with hot water. The filtrate was caught in the original beaker. The excess acid was neutralised with sodium hydroxide and the precipitation was repeated in 0.08 N nitric acid medium.

Composition of Zirconium Compound

The zirconium compound of the acid was prepared by following the same method as described before. The compound was washed with hot water several times and finally with warm alcohol. The compound was dried at 110° C ± 5° C to a constant weight. The known quantities of the dried compound were ignited to the oxide. The results of analysis are given in Table 5.

Table 5. *Analysis of Zirconium Compound*

Sample No.	Amount of dried compound g	ZrO_2 obtained after ignition g	% Zr
1.	0.0186	0.0092	37.09
2.	0.0253	0.0130	38.09
3.	0.0665	0.0342	38.04
4.	0.1168	0.0616	39.04

Two molecular formulae are possible for the said zirconium compound, e.g., (A) $(C_{10}H_8O_6)=Zr=O$, (calculated value of zirconium = 27.74%), (B) $(C_{10}H_8O_6)-\left(Zr\langle^{O}_{OH}\right)_2$, (calculated value of zirconium = 38.59%). The experimental results obtained reveal that the percentage of zirconium is more nearer to the calculated value of zirconium present in the compound possessing the molecular formula (B). Hence, the zirconium compound more probably possesses the latter formula. Further, physicochemical investigations to find out the exact nature and the composition of the above compound are being carried out, the results of which will be reported later on.

Summary

m-Phenylenedioxydiacetic acid has been found to be a selective reagent for the estimation of zirconium. The acid gives a flesh coloured curdy precipitate in the presence of ammonium nitrate, which is quantitative up to 0.10 N HNO_3. Cu^{2+}, Be^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, UO_2^{2+} and Mn^{2+} ions are removed by single precipitation. Al^{3+}, Cr^{3+}, Ce^{3+}, Ti^{4+} and Fe^{3+} ions are removed by double precipitation. Sn^{2+}, Sn^{4+}, Th^{4+} and $V_2O_2^{4+}$ ions interfere in the estimation of zirconium with the help of this reagent. However, very small quantities of Th^{4+} or $V_2O_2^{4+}$ ions do not interfere.

Acknowledgement. Our sincerest thanks are due to Professor Dr. A. B. Sen, Head of the Chemistry Department, for helpful suggestions and laboratory facilities. The authors thanks are also due to the Scientific Research Grant Committee for providing one of us (T. S. S.) a research assistantship and also a contingency grant.

References

[1] Gabriel, S.: Ber. dtsch. chem. Ges. **12**, 1640 (1879). — [2] Pande, C. S., and T. S. Srivastava: Z. analyt. Chem. **165**, 11 (1958).

Ass. Prof. Dr. C. S. Pande, Chemistry Department, Lucknow University, Lucknow (India)

Institute of Nuclear Science „Boris Kidrich" Belgrade (Yugoslavia)

Direct Spectrophotometric Determination of Microgram Quantities of Copper in High Purity Uranium with Oxaldihydrazide

By

D. B. Stevančević

With 2 Figures in the Text

(Eingegangen am 22. September 1958)

Among the available spectrophotometric methods for the determination of copper in uranium, those employing dithizone and sodium diethyldithiocarbamate are most frequently used[4]. These reagents are considerably sensitive but on account of low selectivity, strictly defined conditions should be adhered to in order to eliminate numerous interferences.

Recently, much attention was centered upon the reagents derived from oxaldihydrazide owing to their high sensitivity and selectivity. G. Nelson[2] found that hydrazones obtained by the reaction of oxaldihydrazide with different ketones and aldehydes give highly sensitive color reactions with copper. R. E. Peterson and M. Bollier[3] have determined serum copper with the aid of bis-cyclohexyloxaldihydrazone. G. Gran[1] has investigated the oxaldihydrazones of acetaldehyde and formaldehyde. He found that the molar absorbancy index for copper was 29500 which is certainly the highest value hitherto found with any other copper reagent. Thus, e. g. sodium diethyldithiocarbamate gives molar absorbancy index 8000. This relatively low sensitivity makes impractical a reliable determination of microgram quantities of copper in high purity uranium. However, oxaldihydrazide-acetaldehyde reagent appears to be most suitable in this connection both on account of its sensitivity as well as its selectivity.

The aim of this investigation has been to explore the possibility for the application of the reagent oxaldihydrazide-acetaldehyde for the direct spectrophotometric determination of microgram quantities of copper in high purity uranium and its refined products. Since ammoniacal medium is employed, suitable complexing agents for uranium were chosen, then the color stability and influence of other ions were also investigated. Calibration curve together with a recommended procedure were given.

Experimental

Reagents, solutions and apparatus. Nitric acid, citric acid, ammonia and ammonium carbonate were all Merck's "pro analysi" grade.

Acetaldehyde was Merck's "puriss." quality supplied in ampoules. As the aldehyde was found unpolymerized, it was used in its commercial form. For comparison, parallel experiments were conducted utilizing Carlo Erba acetaldehyde and no difference was noticed in both experiments.

Oxaldihydrazide (ODH) was prepared from diethyloxalate and hydrazine hydrate. After recrystallisation from water it melted at 283, 5° C (decomp.).

U_3O_8 used was purified by repeated precipitations followed by ether extraction. The purity of the final oxide was checked spectrographically.

Copper free, triple distilled water was used throughout.

Solutions required: 1 M ammonium citrate—obtained by neutralizing the acid with ammonia to p_H 9 (measured with p_H-meter).

Concentrated ammonia.

Oxaldihydrazide: aqueous saturated solution. The stability of this solution is followed for a month in which time no change in its behaviour was observed.

Acetaldehyde: 40% aqueous solution.

Standard copper solution: a stock solution containing 1000 μg Cu/ml was prepared by dissolving copper foil p. a. in nitric acid. By suitable dilution a solution containing 5 μg /ml was obtained.

Uranyl nitrate: a solution containing 0,25 g U/ml was obtained by dissolving the corresponding amount of U_3O_8 in nitric acid and expelling excess of nitrogen oxides.

All spectrophotometric measurements were made with Beckman Model DU spectrophotometer using 1 cm glass cells.

Effect of reagents concentration. Preliminarily, experiments were carried out without uranium in order to determine the minimal quantities of reagents to be added so that the reagents were in sufficient excess.

The following quantities per 25 ml of solution are found to be optimal:

concentrated ammonia	4 ml
oxaldihydrazide (sat. solution)	2 ml
acetaldehyde (40%)	4 ml

Under the above conditions the concentrations of the reagents are sufficiently high so that the absorbance remains constant even after further additions of the reagents. It is important to note that the concentration of ammonia should be at least 2 M. At lower concentrations, lower absorbance values and unreproducible results were obtained.

Choice of the complexing agents. Among the various complexing agents for uranium, ammonium citrate and carbonate are found to be most suitable. Citrate ion does not remarkably influence the absorbance of the copper complex and in addition, complexes other metals present which may interfere by forming precipitates in alkaline medium.

The influence of the citrate ion is shown in Table 1. Each sample contained 1 ppm of copper and the reagents at standard concentrations i.e.: 4 ml conc. NH_4OH, 2 ml of oxaldihydrazide (ODH) and 4 ml acetaldehyde in 25 ml of the solution.

Citrate ion brings in a slight increase in the absorbance up to its 0,3 M concentration. At higher concentrations the existance of a certain suppression of absorbance is noticed when the concentration of the other

Table 1
Influence of citrate ion

added ml of 1 M ammonium citrate	Absorbance at 542 mμ
0	0,368
2,5	0,376
5,0	0,378
7,5	0,380
10,0	0,370
12,5	0,340

Table 2. *Color stability*
U concentration: 1 gr/25ml
Cu concentration: 1 ppm

Time	Absorbance at 542 mμ
10 min	0,365
20 min	0,374
30 min	0,378
40 min	0,380
60 min	0,381
3 hours	0,385
5 hours	0,386

reagents remained the same. By adding 5 ml 1 M ammonium citrate 1 g uranium in 25 ml solution can be complexed which does not involve any citrate interference. Hence, this concentration of citrate is chosen for all further work.

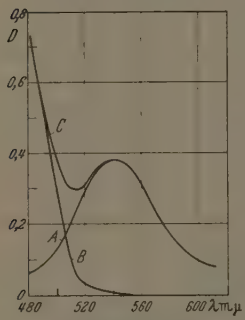

Fig. 1. The absorption curves of uranium and copper complex

The absorption curves for copper complex (*A*) uranyl citrate complex (*B*) and total curve (*C*) for uranium and copper complex are given in Fig. 1.

The behaviour of ammonium carbonate is similar to citrate but is not possible to complex uranium at such high concentrations.

Color stability. The reddish-violet color of the copper complex alone is stable for 24 hours. As work is carried out with solutions containing citrate complex of uranium, this system is considerably photosensitive so that the reproducibility of the measurements depend greatly on the intensity of the light present at the time of preparation of the samples. Samples prepared in the direct sunlight are scarcely reproducible. In certain cases it was also noticed that the color that disappeared when exposed to sunlight was restored if kept in the dark for some time. So, it is important to avoid highly intensive daylight at the time of experiment. It is found best to isolate daylight and to work under an artificial light (an electric lamp of 100 W in a room of cca 60 m^3). Under such conditions a good stability is obtained as shown in Table 2. Absorbance is measured against a blank containing all the other components except copper.

The color stability is attained after 30 min so that measurements were taken 35 ± 5 min after the addition of the reagents.

Influence of other ions. Influence of foreign ions was investigated in samples containing 1 ppm Cu, 0.5 g U/25 ml. standard concentrations of citrate and the reagents besides the ion under investigation. The results are given in Table 3.

Table 3. *The effect of other ions*

Ions	added as	Ion/copper weight ratio	Absorbance at 542 mμ
—	—	—	0,378
Cd	nitrate	100	0,374
Zn	chloride	100	0,370
Ag	nitrate	100	0,378
Cr^{VI}	chromate	50	0,382
Al	sulfate	40	0,362
Fe^{III}	nitrate	40	0,370
Mn	nitrate	40	0,378
Ni	sulfate	40	0,385
V	vanadate	40	0,390
Mo	molybdate	40	0,388
W	tungstate	40	0,380
Ti^{IV}	sulfate	40	0,372
Ca	chloride	40	0,373
Sr	chloride	40	0,370
Ba	chloride	40	0,374
Rb	chloride	40	0,376
Mg	chloride	100	0,369
Li	chloride	100	0,379
Na, K	chloride	100	0,386
Sn^{II}	chloride	40	0,371
Ce^{III}	chloride	40	0,349
Co	chloride	1	0,396
Co	chloride	4	0,410
Co	chloride	8	0,485
Co	chloride	20	0,496
Co	chloride	40	0,550
anions BO_3^{3-}		100	0,392
SCN^-		100	0,366
ClO_4^-		100	0,364
EDTA		100	0,000
CH_3COO^-		100	0,370
$C_4H_4O_6^{2-}$		100	0,372
$H_2PO_4^-$		100	0,373

Selectivity of the reagent is very high as the interference due to the foreign ions is quite negligible with the exception of cobalt which interferes seriously. If the concentration of cobalt and copper are the same in the sample an approximative 5% increase in the absorbance is noticed. In investigations involving cobalt interference nonadditivity of absorbance is observed. Sum of the absorbances of cobalt and copper measured

individually are lower than the absorbance of their mixture measured under the same conditions. This indicates the formation of a mixed complex of the above two elements.

In carbonate solutions interference due to some other ions also appears, chief among them being iron.

Among the anions the greatest interference is due to EDTA. At concentration of 0,1 M it masks the reaction and prevents the color formation at least for an hour.

Calibration curve. 0.5—6 ml of copper solution containing 5 μg/ml are taken in 25 ml measuring flasks. The uranium solution containing 1 g U is added and complexed by the addition of 5 ml ammonium citrate 1 M (p_H 9). Later, 4 ml conc. ammonia, 2 ml ODH and 4 ml acetaldehyde solution are added. The solution was made up to the mark and after 35 ± 5 min the absorbance was measured at 542 mμ against a blank similarly prepared but without copper. The results are shown in Fig. 2 and Table 4.

Table 4. *Calibration data*

Cu conc. ppm	Absorbance at 542 mμ	Mean relat. deviation%
0,1	0,037	7,38
0,2	0,073	
0,4	0,148	
0,5	0,186	
0,6	0,223	
0,635 (10^{-5} M)	0,236	1,75
0,8	0,297	
1,0	0,378	0,94
1,2	0,449	

Calibration curve passes through the origin if the absorbance is measured against a blank containing the same quantity of uranium as in the sample.

Molar absorbancy index is 23600.

In ammonium carbonate solutions containing 0,2 g U/25 ml nearly an identical curve is obtained.

Recommended procedure. Measure two 1 g samples of uranium (or a corresponding amount of the salt) in two 50 ml beakers, dissolve in HNO_3 (1:1) and after the dissolution evaporate almost to dryness to drive off excess oxides of nitrogen. Add after cooling 4 ml of water followed by 5 ml 1 M ammonium citrate (p_H 9) and transfer the solution to 25 ml measuring flasks. Wash the beakers twice with 2 ml portions of water and add the washings to the corresponding solutions in the graduated flasks. Add 4 ml of NH_4OH to each flask. Make up solution in one of the flasks to the mark and this will serve as the reference solution. Add 2 ml of ODH solution and 4 ml of acetaldehyde to the other flask and then make up to the mark. Measure the absorbance after 35 ± 5 min at 542 mμ against the reference solution. Read the concentration from the calibration curve or determine the unknown concentration by comparison with a parallel sample containing copper free uranium to which a known amount of copper was added.

This procedure is suitable for copper concentration in uranium from 2—30 ppm. At higher concentrations it is necessary either to work with 50 ml of the solution doubling only the quantities of the reagents or to take smaller quantities of uranium.

Comparison with the existing methods. In order to evaluate the suitability of this method a comparison was made with the methods frequently used to this purpose e. g. dithizone and diethyldithiocarbamate (DDTC) methods. The data for the comparison are taken from the literature[4,5].

The reaction with ODH is as sensitive as dithizone while it is three times more sensitive than DDTC.

Selectivity in the case of ODH is higher than with the two methods. In the former case cobalt only interferes while in the latter cases a great number of metals react and their interference can only be eliminated by additional operations like solvent extraction or by employing limited and specified conditions (p_H, masking etc.).

The color of the copper complex with ODH is much more stable than in the case of the above methods. The unstability of the color in the case of DDTC in presence of light is quite remarkable.

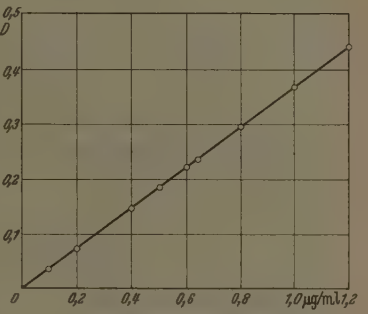

Fig. 2. Calibration curve

The stability of the reagents is also the best in this method as the reagent solution is found stable for at least one month while DDTC solution should be prepared fresh every few days. Dithizone is influenced by the purity of solvents e. g. carbontetrachloride.

The time taken for analysis is much less than in other two methods as there is no necessity for extraction.

On the basis of the above comparison, it can be seen that the ODH method is more suitable for the determination of copper in uranium than the existing methods.

Summary

The possibility for the direct spectrophotometric determination of microgram quantities of copper in high purity uranium using oxal-dihydrazide-acetaldehyde reagent in ammoniacal medium was investigated. Uranium was complexed with ammonium citrate or ammonium carbonate.

It was shown that copper can be determined with fairly good accuracy. At the copper concentration of 0,1 ppm and 1 ppm relative mean deviation in % amounts to 7,38 and 0,94 respectively.

The selectivity of the reaction is very high, the only interference being cobalt which when present in equal concentrations increases the absorbance by about 5%.

Thanks are due to Miss Kira Jovanović for her help in taking the spectrophotometric measurements.

References

[1] Gran, G.: Anal. chim. Acta **14**, 150 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **153**, 195 (1956). — [2] Nilsson, G.: Acta chem. scand. **4**, 205 (1950); cf. Z. analyt. Chem. **153**, 161 (1956). — [3] Peterson, R. E., and M. E. Bollier: Analyt. Chemistry **27**, 1195 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **151**, 151 (1956). — [4] Rodden: Analyt. Chemistry of the Manhattan Project. — [5] Sandell, E.B.: Colorimetric Determination of Traces of Metals.

Dipl.-Ing. Dušan Stevančević, Institute of Nuclear Science „Boris Kidrich" Laboratory of Physical Chemistry, Beograd-Vinča (Yugoslavia), P.O.B. 522

Philips Research Laboratories
N.V. Philips' Gloeilampenfabrieken Eindhoven, Netherlands

The Gravimetric Determination of Nickel with Dimethylglyoxime in the Presence of Copper

By

A. Claassen and L. Bastings

(Eingegangen am 2. Oktober 1958)

Although it is generally agreed that copper interferes in the gravimetric determination of nickel with dimethylglyoxime, the literature gives very little information about the extent of the interference. Recently the Methods of Analysis Committee[6] published a procedure for the determination of nickel with dimethylglyoxime in steels containing copper. In preliminary experiments it had been found that copper interferes by consuming part of the available reagent, by retarding or partially inhibiting precipitation and by direct contamination of the precipitate with small amounts of copper.

The temperature of precipitation in ammoniacal citrate solution was found to have a pronounced effect on the copper contamination of the nickel complex. In the final procedure proposed for the determination of nickel in copper containing steels, precipitation is effected at 90° C, at which temperature the contamination is smallest. Using 25 resp. 75 ml of a 1% solution of dimethylglyoxime, 30 resp. 200 mg of copper were stated not to interfere with the precipitation of 20 mg of nickel.

Repeating these experiments we could in the main confirm the fact that the contamination of the nickel complex by copper is smallest when precipitated at a high temperature. Photometric determination of copper in the precipitate showed that the amount varied from 0.16 mg in the presence of 50 mg of copper to 0.6 mg in the presence of 200 mg of copper. These values are higher than those found by the committee and too large to permit an accurate nickel determination unless a reprecipitation is made.

It has been claimed by BALZ[1] that precipitation in acetate buffered solution gives a satisfactory separation from copper. In accordance with GROSSMANN and MANNHEIM[5] we found that contamination by copper is large, as shown in Table 1. Just as in ammoniacal solution, the contamination is smaller when precipitated at a higher temperature.

Table 1. *Precipitation of 20 mg of Nickel with 40 ml of 1% Dimethylglyoxime Solution in Acetate Buffered Solution (p_H 6) in the Presence of the Indicated Amount of Copper.* Temperature of precipitation 40° and 90° C. Volume 300 ml

mg Cu present in solution		2	5	10	25	50
mg Cu in precipitate	40° C	0.76	1.2	1.5	2.4	3.6
	90° C	0.03	0.16	0.18	0.3	0.6

Recently NIELSCH[8,9] and also BÖLTZ, WIEDMANN and KURELLA[2] described the extraction of the nickel dimethylglyoxime complex with chloroform, copper being masked by thiosulphate at p_H 6.5. This led us to investigate the possibility of using thiosulphate as a masking agent in the gravimetric procedure. Preliminary experiments showed that in ammoniacal solutions containing thiosulphate, copper still coprecipitates slightly with nickel. With decreasing p_H the copper contamination decreases and is practically nil at p_H 6.5 and lower; with copper amounts up to 500 mg the quantity of coprecipitated copper then does not exceed 10 to 20 μg.

Table 2. *Stability of the Copper Thiosulphate Complex at p_H 6 in Aqueous Solution*

Temperature °C	Decomposition begins
90—100	immediately
75	after 30 min
65	after 90 min
55	after 3 hours
45	after > 50 hours

Precipitation in solutions containing the copper thiosulphate complex should be carried out at a temperature not exceeding 45° C, as the copper complex decomposes at higher temperatures with the formation of a brown-black precipitate (Table 2).

The upper limit of the p_H range being fixed at 6.5 and the temperature of precipitation at about 45° C it remained to establish the lower limit of the permissable p_H-range.

In the customary procedures for the precipitation of nickel, citrate or tartrate is used to keep elements like aluminium, iron etc. in solution. In this case citrate proved to be unsuitable as the precipitation of nickel in citrate solutions is only 95 to 98% complete at a p_H below 7. This agrees with earlier work[4] in which it was found that extraction of the nickel complex with chloroform from citrate solutions is only complete above p_H 7.2.

In order to find the permissable p_H range for precipitation from tartrate solution, 20 mg of nickel were precipitated at 40° C in a total volume of 250 ml, containing 1 g of tartaric acid and 25 ml of 1% dimethylglyoxime in alcohol. The p_H was adjusted by means of suitable additions of ammonium acetate and ammonia. After the addition of the reagent the solution was allowed to cool to room temperature and was filtered 30 min after precipitation. If necessary the temperature of the solution was adjusted to 25° C before filtering. The nickel contained in the filtrate was extracted with chloroform* and determined photometrically as described previously[4].

The results of these experiments are given in Table 3.

Table 3. *Nickel in 250 ml of Filtrate (25° C) as a Function of p_H.* Precipitation in tartrate solution at 40° C

p_H	< 3.8	4.0	4.7	5.4	6.0—11.3
mg Ni in filtrate	no precipitation	0.62	0.053	0.021	0.016—0.019

It is clear from Table 3 that for the lowest solubility of the nickel dimethylglyoxime the p_H should be above 5.4. Experiments with solutions containing 3 g of sodium thiosulphate in addition to tartrate showed the same solubility in the p_H range 5—7. The solubility proved to be independent of the amount of nickel precipitated, down to 1 mg of nickel in a total volume of 250 ml. Increassing the excess of reagent did not decrease the above found solubility.

The solubility increases when precipitating amounts below 1 mg from a total volume of 250 ml with a standing time of only 30 min. Thus for 0.5 resp. 0.25 mg of nickel a solubility of 27 resp. 35 μg was found. After standing overnight at room temperature, however, the solubility had decreased to the values given in Table 3.

The solubility is not increased by the presence of considerable amounts of other elements and salts, as e.g. 500 mg Fe + 500 mg Cu + 15 g sodium thiosulphate in a final volume of 250—300 ml.

It is known[10] that in ammoniacal solution the solubility of the nickel complex increases with increasing alcohol concentration and with ncreasing temperature. Table 4 gives the results of experiments carried out to assess these effects in acetate buffered tartrate solution.

---

* Nielsch[9] states that extraction of the nickel dimethylglyoxime complex by chloroform is incomplete when the concentration of nickel is lower than 1 μg per ml in the water phase. We have been unable to confirm this. Our experiments showed that a few micrograms of nickel could be extracted completely from a volume of 250 ml. Experiments of Mr. Verkerk of this laboratory with radioactive, practically carrier-free ^{65}Ni, also showed that extraction is complete at these low concentrations.

Table 4 shows the importance of cooling the solution before filtering; alcohol concentrations up to about 10 percent by volume can be tolerated. If the utmost precision is not wanted the alcohol concentration may be allowed to rise to about 20% by volume.

Table 4. *Nickel in 250 ml of Filtrate (p_H 6), as a Function of the Alcohol Concentration when Filtered at 25° resp. 60° C*

Alcohol concentration in vol. %	Temperature of filtration	
	25° C µg	60° C µg
6	14	48
13	33	60
25	46	70
40	90	120
50	120	220
60	160	315
70	165	350

In many published procedures the nickel precipitate is still washed with hot water, although NUKA[10] as early as 1933 and some years later MINSTER[7] had drawn attention to its solubility in hot water. Our measure ments, given in Table 5, confirm those of NUKA's and show that a loss of 0.1 mg of nickel can easily occur when washing with hot water.

In order to mask copper completely—even such a small amount as 1 or 2 mg of copper—a minimum amount of 3 g of sodiumthiosulphate should be present in a final volume of 250 to 300 ml. If the solution contains trivalent iron this is reduced to the divalent state. Experiments showed that generally the amount of sodium thiosulphate should be at least 15 times the combined weight of copper and iron, with the above mentioned minimum of 3 g.

Table 5. *Loss of Nickel when Washing a Precipitate of Nickel Dimethylglyoxime with 100 ml of Water of the Indicated Temperature*

Temperature ° C	25	40	60	80
Loss of Ni in µg	6	13	33	95

In the presence of cobalt it is necessary to add sufficient dimethylglyoxime to combine with all of the cobalt to ensure complete precipitation of nickel. Difficulties arise when cobalt is present as well as iron. In the presence of iron and with more than about 25 mg of cobalt, the nickel precipitates are coloured red-brown to brown and are of a more slimy nature. These precipitates contain small amounts of both iron and cobalt; they have already been described by WEELDENBURG[11] and by CHIRNSIDE, CLULEY and PROFFITT[3]. These latter authors proved that the separation of nickel from iron and cobalt could be improved by preliminary reduction of the iron with sodium sulphite. Although one would expect the iron to be reduced completely by the thiosulphate, some improvement in the separation was obtained when the iron (and copper) were reduced by ammonium bisulphite prior to the addition of the thiosulphate. This procedure, however, did not give consistent results and as the contaminated precipitate contains the nickel quantitatively, the

only safe procedure is to make a reprecipitation in those cases where more than 25 mg of cobalt is present. In case of doubt the colour of the precipitate is an indication for the experienced observer whether reprecipitation is necessary or not. On the basis of the above data the following procedure is proposed as a general procedure for the gravimetric determination of nickel in the presence of copper.

Recommended method

Solutions

Dimethylglyoxime: 1% in alcohol (ethanol); Tartaric acid: 200 g/l; Sodium thiosulphate: 200 g/l; Ammonium acetate: 200 g/l. This solution diluted (1 + 9) should have a p_H of 6.5—7.0. If necessary adjust the p_H with ammonia or acetic acid.

Sample Solution

This solution may contain up to about 70 mg of nickel and not more than 25 mg of cobalt.

Procedure

Add to the sample solution (Note 1) 5 to 10 ml of tartaric acid solution (Note 2) and neutralize with ammonia until the solution is faintly ammoniacal. Filter the solution if not completely clear at this stage and wash the filter with hot water; discard the precipitate. Add dilute hydrochloric acid until weakly acid (p_H 3—5) and dilute to about 200 ml. Heat to 45° C and add 15 ml of sodium thiosulphate solution whilst stirring (Note 3). Wait a few minutes for reduction to take place, then add, whilst stirring and pouring directly into the solution, the necessary amount of dimethylglyoxime solution (Note 4), followed by 25 ml of ammonium acetate solution. Stir thoroughly for a short time to assist coagulation of the precipitate. Allow to cool to room temperature for at least 30 min, stirring occasionally (Note 5). Filter through a weighed sintered glass crucible and wash thoroughly with cold water (Note 6). Dry at 150° C to constant weight. Weigh as nickel dimethylglyoxime with 20.32% of nickel.

Notes

1. The sample solution may be obtained in any convenient manner. Brasses and bronzes are dissolved in hydrochloric acid with the addition of nitric acid or hydrogen peroxide, so as to bring the tin into solution. After solution is complete, peroxide and nitrous oxides should be removed by boiling. Steels are dissolved in hydrochloric acid, followed by oxidation with nitric acid. With tungsten containing steels the precipitated tungsten trioxide dissolves when the solution is made alkaline after the addition of tartaric acid; it remains in solution during the precipitation of the nickel and does not interfere.

2. If large amounts of elements like iron, aluminium etc. are present the amount of tartaric acid should be increased sufficiently. In the presence of large amounts of zinc a crystalline precipitate can form at p_H 3—5 if insufficient tartaric acid has been added.

3. The amount of sodium thiosulphate should be 15 times the sum of the weight of copper plus iron, with a minimum of 3 g. If more than this amount of thiosulphate has to be added, the p_H may become too high. If necessary, therefore, readjust the p_H to about 5 with 2 n hydrochloric acid after the addition of thiosulphate. The final p_H after the addition of all reagents should be 5.5—6.5. Addition of thiosulphate in the solid state can lead to decomposition with the formation of elemental sulphur.

4. Add 0.5 ml for every mg of nickel plus cobalt and add 5 to 10 ml in excess.

Table 6. *Analysis of Standard Samples and Synthetic Mixtures*

Sample No. or mixture NBS = National Bureau of Standards BCS = British Chemical Standard	Sample weight mg	Certified value and range % Ni	Ni found %
NBS 62b Manganese bronze (57.4% Cu; 38.0% Zn; 0.96% Sn)	1000	0.27 (0.26— 0.29)	0.27; 0.27; 0.27
NBS 37d Sheet brass (70.8% Cu; 26.6% Zn; 0.97% Sn; 0.94% Pb)	1200	0.58 (0.57— 0.58)	0.58; 0.57
NBS 124c Ounce metal (84.2% Cu; 4.9% Zn; 5.1% Sn; 4.7% Pb; 0.2% Sb)	1000	0.60 (0.59— 0.61)	0.60; 0.60
NBS 52b Cast bronze (88.2% Cu; 3.0% Zn; 8.0% Sn)	600	0.72 (0.71— 0.72)	0.73
id.	1000	0.72 (0.71— 0.72)	0.73
BCS 179 Manganese brass (58.8% Cu; 33.9% Zn; 1.75% Sn)	1000	1.01 (0.96— 1.05)	1.00; 1.01
NBS 115 Cu-Ni-Cr-cast iron (6.4% Cu; 2.17% Cr; 2.4% C)	250	15.89 (15.84—15.95)	15.88; 15.83
NBS 162 Ni-Cu-alloy (28.9% Cu; 2.3% Mn)	100	66.38 (66.35—66.44)	66.40; 66.37
BCS 233 Permanent magnet alloy (5.1% Cu; 23.6% Co; 7% Al; 0.8% Ti)	100	11.22 (11.14—11.28)	11.19; 11.20; 11.19; 11.22
id.	100 + 100 Cu	11.22 (11.14—11.28)	11.19; 11.22
BCS 266 Permanent magnet alloy (3.3% Cu; 23.4% Co; 8% Al; 1.2% Nb)	100	13.3 (13.2 —13.4)	13.30; 13.39; 13.32
NBS 160 Cr-Ni-Mo-steel (19.1% Cr; 3% Mo; 0.05% Cu)	200	8.91 (8.88— 8.94)	8.87; 8.88
NBS 50b W-Cr-V-steel (18% W; 4% Cr; 1% V; 0.089% Ni)	250 + 22.02 Ni	—	22.01 mg*
NBS 121 18 Cr-8 Ni-steel (17.8% Cr; 0.4% Ti)	300	9.04 (9.00— 9.08)	9.01; 9.04
id.	200 + 200 NBS 50b	9.04	9.05*

* Values corrected for the nickel content of NBS 50b.

5. When determining small amounts of nickel (1 mg and below) the solution should stand overnight.

6. Prevent sucking the precipitate dry during washing, otherwise a compact mass is formed from which it is difficult to wash out all salts.

Table 6 gives the results of the application of this procedure to a number of standard samples and to a few synthetic mixtures. It shows that this procedure is also suited for the determination of nickel in (practically) copper-free steels.

Summary

A detailed investigation has been made of the gravimetric determination of nickel with dimethylglyoxime in the presence of copper. Copper interference is eliminated by precipitation in a solution containing tartrate and thiosulphate at a p_H of 5.5—6.5. The solubility of the nickel dimethylglyoxime complex has been determined as a function of temperature, p_H and alcohol concentration.

References

[1] Balz, G.: Z. anorg. allg. Chem. **231**, 15 (1937). — [2] Böltz, G., H. Wiedmann and W. Kurella: Metall **10**, 821 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **155**, 212 (1957). — [3] Chirnside, R. C., H. J. Cluley and P. M. C. Proffitt: Analyst **72**, 351 (1947). — [4] Claassen, A., and L. Bastings: Receuil Trav. chim. Pays-Bas **73**, 783 (1954). — [5] Grossmann, H., and J. Mannheim: Z. angew. Chem. **30**, 159 (1917); cf. Z. analyt. Chem. **57**, 106 (1918). — [6] Methods of Analysis Committee: J. Iron Steel Inst. **180**, 262 (1955). — [7] Minster, J. T.: Analyst **71**, 424 (1946); cf. Z. analyt. Chem. **128**, 352 (1948). — [8] Nielsch, W.: Z. analyt. Chem. **150**, 114 (1956). — [9] Nielsch, W.: Z. Erzbergbau Metallhüttenwes. **8**, 369 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **150**, 455 (1956). — [10] Nuka, P.: Z. analyt. Chem. **91**, 29 (1933). — [11] Weeldenburg, J. G.: Receuil Trav. chim. Pays-Bas **43**, 465 (1924); cf. Z. analyt. Chem. **86**, 246 (1931).

Dr. A. Claassen, Natuurkundig Laboratorium
der N.V. Philips Gloeilampenfabrieken, Eindhoven (Holland)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

II. Analyse anorganischer Stoffe

Arsen. *Die polarographische Bestimmung von drei- und fünfwertigem Arsen* führen A. H. M. Cosijn und H. J. van der Molen[1] nach folgender *Vorschrift* aus: Die abgemessene Probe wird mit Schwefelsäure und Gelatinelösung versetzt, so daß die Lösung 10^{-3} bis $5 \cdot 10^{-5}$ m an Arsen(III), 1 n an Schwefelsäure ist und 0,01% Gelatine enthält. Das Polarogramm ($t = 2$—3 sec) der mit Stickstoff behandelten Lösung wird mit Eichpolarogrammen für die Stufe bei $E_{1/2} = -0{,}66$ V gegen die gesätt. Kalomelelektrode ausgewertet. Eine zweite Probe wird dann zur Arsen(V)-Bestimmung mit Schwefelsäure und Hydrazinsulfat versetzt, so daß die Lösung 80% Schwefelsäure, 300 mg Hydrazinsulfat je 10 ml enthält und 1,4—$28{,}2 \cdot 10^{-3}$ m

an Gesamtarsen ist. Durch Erhitzen auf 180—200° C für 10 min wird reduziert. Nach dem Abkühlen wird so verdünnt, daß die Lösung 0,1 n ist an Schwefelsäure, es wird Gelatine zugesetzt und polarographiert. Die As^{III}-Bestimmung ist auf + 1,5% genau ohne besondere Vorsicht möglich. Der Standardfehler bei der Bestimmung des Gesamtarsengehalts liegt bei 1,8%. Die für den As^{V}-Gehalt als Differenz erzielbare Genauigkeit hängt vom As^{V}/As^{III}-Verhältnis ab.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 259—263 (1958). Univ. Utrecht (Niederlande). K. Cruse

J. K. Lee und R. N. Adams[1] entwickeln ein Verfahren, bei dem die früher beschriebene potentiometrische Endpunktsbestimmung mit kontrolliertem Stromfluß[2] für die *coulometrische Titration von nur 40—200 µg Arsen* mit Brom angewendet wird. Titriert wird mit dem ebenfalls früher beschriebenen Stromkonstanthalter[3] an einer 3,5 cm langen Platinspiraldrahtelektrode als Kathode, die gegen eine 2 cm^2 große Generatoranode aus Platiniridiumfolie geschaltet wird. Stehen einige mg As^{III} zur Verfügung, so wird zunächst 0,5 g reinstes Kaliumbromid in 35 ml 1 n Salzsäure in der Titrierzelle gelöst und nach Zugabe des Arsens mit 0,3 µA so lange polarisiert (einige Minuten), bis sich ein stabiles Anfangspotential eingestellt hat. Dann wird die Bromentwicklung eingeschaltet. Ein plötzlicher Potentialsprung von 0,2 auf etwa 0,6 V gegen die gesättigte Kalomelelektrode zeigt den Endpunkt der Titration an. Sollen nur Mengen von 40—200 µg titriert werden, so wird mit 1,8 µA während 5 min vorpolarisiert, anschließend eine kleine Brommenge entwickelt (1 mA während 0,2 min), ohne daß sich das Potential der Indicatorelektrode um mehr als 200 mV vom Anfangswert entfernt, dann wird die Arsenprobe zugegeben (nicht mehr als 10 ml) und wiederum Brom entwickelt bis zur Wiedereinstellung des Ausgangspotentials.

Der Fehler der Analysen liegt im Milligrammbereich bei wenigen Zehntel Prozenten und sinkt für Mengen über 10 mg auf 0,1% ab. Im Mikrogrammbereich werden fast die gleichen Fehlergrenzen festgestellt. Fielen Einzelwerte aus, so erfolgte in der Regel Aufnahme von Luftblasen (Rührer!), was daher vermieden werden muß.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 240—243 (1958). Princeton Univ., Princeton, N.J. (USA). — [2] Adams, R. N.: Analyt. Chemistry **26**, 1933 (1954), vgl. diese Z. **148**, 138 (1955/56). — [3] Cooke, W. D., and N. H. Furman: Analyt. Chemistry **22**, 896 (1950); vgl. diese Z. **134**, 39 (1951/52). K. Cruse

Bei der Titration von Arsen(III), Hydrazin, Thiosulfat und Rhodanid mit Jodat kann man nach M. G. Bapat und S. V. Tatwawadi[1] zwei visuelle Endpunkte verwenden, einen ersten, wenn das Jodat zu Jodid reduziert ist und einen zweiten, wenn Jodid mit Überschuß Jodat zu J^+ reagiert hat. In beiden Fällen verschwindet die intermediär auftretende Jodfärbung am Äquivalenzpunkt. Die Reduktion zum Jodid verläuft nur quantitativ bei Gegenwart von Hg^{II}, wobei sich der Komplex $[HgJ_4]^{2-}$ bildet[2]. In stärker saurer Lösung wird die Verbindung wieder zersetzt und die frei gewordenen Jodionen können dann mit Jodat weiter titriert werden. 5 mg der Probesubstanzen lassen sich mit einem Fehler von 2—3% erfassen. — *Allgemeine Arbeitsvorschrift.* Man bringt 2—6 ml der Jodatlösung in die Küvette eines Hilger-Spekker-Absorptiometers, stellt mit konz. Salzsäure auf p_H 1,5—2,5 ein, fügt 2 ml kalt gesättigte $HgCl_2$-Lösung hinzu, läßt die Probelösung aus einer Mikrobürette zufließen und verfolgt die Reaktion im Absorptiometer mit Blaufilter (450—500 mµ). Nach dem ersten Umschlag gibt man so viel konz. Salzsäure hinzu, daß die Lösung daran 6 n ist und titriert dann die Jodidionen mit Jodat. — *Rhodanid* kann nicht direkt, sondern nur durch Rücktitration mit arseniger Säure

ermittelt werden. Man versetzt die Rhodanidlösung mit einem Überschuß an Jodat, wobei nach der Gleichung $SCN^- + H_2O + 3\,O = CN^- + H_2SO_4$ Cyanid und Sulfat entstehen.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 334—338 (1958). Hindu Univ., Banaras (Indien). — [2] Bapat, M. G., und B. Sharma: diese Z. **157**, 258 (1957). G. Denk

Über den Nachweis von Schwefelspuren berichten W. Noddack und I. Noddack[1]. Zum Nachweis kleinster Sulfatmengen werden diese an Trägersubstanzen (z. B. BaF_2) als Bariumsulfat abgetrennt, zu Bariumsulfid reduziert und als Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzt, der dann colorimetrisch als Silbersulfid erfaßt wird. Die Empfindlichkeit des H_2S-Nachweises kann durch Einwirkung des Schwefelwasserstoffs auf eine Bromsilberschicht und nachfolgendes Entwickeln wesentlich erhöht werden, da die gebildeten Ag_2S-Spuren die Reduktion der Bromsilberkörner stark katalysieren. — *Ausführung.* 1—50 mg Analysensubstanz werden mit 5 ml eines Gemisches von konz. Salz- und Salpetersäure übergossen und 1 Std stehen gelassen. Danach wird kurz auf 60° C erwärmt und nach Reaktionsende zur Trockne gedampft. Sind noch ungelöste Teile der Analysensubstanz vorhanden, so ist die Operation zu wiederholen. Der Rückstand wird mit konz. Salzsäure nochmals zur Trockne gedampft und in 10 ml 6%iger Bariumchloridlösung unter Erwärmen gelöst. Nach dem Zusatz von 5 ml 0,5%iger Kaliumhydrogenfluoridlösung wird die Lösung etwa 30 min auf einer schnellaufenden Zentrifuge ausgeschleudert. Die überstehende Lösung wird dekantiert und der BaF_2-$BaSO_4$-Niederschlag mit 10 ml 6%iger $BaCl_2$-Lösung gewaschen. Die Lösung wird abgegossen und das Glas bei 120° C getrocknet. Das Zentrifugenröhrchen wird in einem Quarzrohr im Wasserstoffstrom 20 min auf 600° C erhitzt. Der Niederschlag wird in einer Zersetzungsapparatur, die von Stickstoff durchflossen ist (10 ml/min), auf 80° C erwärmt und mit 10%iger Salzsäure behandelt. Der entweichende Schwefelwasserstoff passiert ein mit 5%iger Ag-Acetatlösung getränktes Filter, das sich je nach H_2S-Menge braun bis schwarz färbt. Das Filter wird entweder visuell oder photoelektrisch mit dem Reflexionsmesser mit einer geeichten Schwärzungsskala verglichen. Es lassen sich je nach Filtergröße 10^{-5} bis 10^{-7} mg Schwefel nachweisen. Eine Blindprobe muß mit angesetzt werden. — Das Bromsilberfilter wird nach folgender Vorschrift hergestellt: Ein Stück Film mit klar arbeitender Kine-Positiv-Emulsion, wird in Wasser gelagert, bis die Emulsion aufgequollen ist. Die Emulsion wird in heißem Wasser gelöst und in ein Becherglas abgegossen, an dessen Boden sich ein Papierfilter befindet. Im Laufe von wenigen Stunden setzt sich eine AgBr-Schicht auf dem Filter ab. Man entfernt die Lösung und trocknet das Filter. Alle Operationen müssen im Dunkeln vorgenommen werden. Das Filter wird in die lichtdicht abgeschlossene Zersetzungsapparatur gebracht und nach der H_2S-Einwirkung in der üblichen Weise photographisch entwickelt und fixiert. Die Schwärzung wird wie oben bestimmt. Durch diese Arbeitsweise wird die Empfindlichkeit um den Faktor 500 gesteigert. Diese Empfindlichkeit ist so groß, daß sie bei der $BaSO_4$-Fällung nicht mehr ausgenutzt werden kann. Der Nachweis ist auf direkt aus der Analysensubstanz entwickelten Schwefelwasserstoff beschränkt. Selen reagiert ähnlich wie Schwefel. Größere Mengen Selen müssen daher bei der Schwefelbestimmung durch Reduktion mit Zinn(II)-chlorid entfernt werden. — Das Original enthält ausführliche apparative und reaktionschemische Einzelheiten.

[1] J. prakt. Chem., Reihe 4, **5**, 274—281 (1958). Staatl. Forsch.-Inst. Geochemie, Bamberg. H. Zimmer

Sulfat. *Zur komplexometrischen Sulfatbestimmung* bringt man nach N. Iritani und T. Tanaka[1] den p_H-Wert der Lösung mit verd. Ammoniak auf 9—10, versetzt mit einem geringen Überschuß an Bariumkomplexonat-Lösung (Ba-ÄDTA-Lösung),

erhitzt auf dem Wasserbad, bringt tropfenweise mit Salzsäure auf p_H 2,5—3 zur Bariumsulfatausfällung, filtriert und bestimmt in dem höchstens 100 ml betragenden Filtrat mit Magnesiumchloridlösung und Eriochromschwarz T als Indicator oder mit Bariumchloridlösung und Phthaleinkomplexon-Indicator die freigesetzte Äthylendiamintetraessigsäure. Etwa 10 mg Sulfat lassen sich so auf 1% genau bestimmen. Natrium- und Kaliumionen stören nicht.

[1] Jap. Analyst **7**, 42—46 (1957) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.). Coll. Pharmaz. Shizuoka (Japan). KLAUS BRODERSEN

Die Mikrobestimmung von Sulfat mit 4-Amino-4′-chlordiphenyl nach R. BELCHER, A. J. NUTTEN und W. I. STEPHEN[1] hat T. A. BENGTSSON[2] nachgeprüft und dabei zu niedrige und schwankende Werte erhalten. Die von BELCHER u. Mitarb.[1] erhaltenen vorzüglichen Ergebnisse beruhen — wie auch W. GEILMANN und W. GEBAUHR[3] festgestellt haben — auf einer Fehlerkompensation, die darin besteht, daß einerseits ein Teil des Sulfats nicht mitgefällt oder ausgewaschen wird, dafür aber andererseits ein Teil des Reagenses am Niederschlag adsorbiert wird. Ebenso erklären sich auch die guten Ergebnisse, die B. B. BAUMINGER[4] bei Verwendung einer gesättigten Lösung des Aminsulfats zum Auswaschen erhalten hat. Verf.[2] hat die Dissoziationskonstante und die Löslichkeit des Reagenses bestimmt und für letztere einen um das Zehnfache höheren Wert gefunden als BELCHER u. Mitarb. (Die neuerdings von R. BELCHER, A. J. NUTTEN, E. PARRY und W. I. STEPHEN[5] angegebenen Werte stimmen jedoch mit den vom Verf.[2] gefundenen annähernd überein.) Die Löslichkeit des 4-Amino-4′-chlorodiphenylsulfats ist mit 164 mg/l noch größer als die des Benzidinsulfats (80 mg/l). Verf. glaubt, daß die Vollständigkeit der Fällung verbessert werden könnte, wenn man eine 0,01 m Reagenslösung benutzt, die nur 0,025 m an HCl ist und die Probelösung vorher neutralisiert. Jedoch sollte zunächst noch mehr Erfahrung bezüglich der Größe der in das Verfahren eingehenden Fehler gesammelt werden, bevor man das 4-Amino-4′-chlordiphenyl als Reagens zur *S-Bestimmung in der Mikroelementaranalyse* empfehlen kann.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1953**, 51; vgl. diese Z. **142**, 74 (1954). — [2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 353—359 (1958). Univ. Uppsala (Schweden). — [3] Angew. Chem. **66**, 453 (1954). — [4] Analyst **81**, 12 (1956); vgl. diese Z. **154**, 214 (1957). — [5] Analyst **81**, 4 (1956); vgl. diese Z. **154**, 151 (1957). KLAUS BRODERSEN

Die Trennung von Sulfat und Tellurat durch Anionenaustausch beschreiben K. KIMURA, N. IKEDA, M. INARIDA und H. KAWANISHI[1]. Von Amberlite IRA 400 (Cl-Form, 80—120 mesh, 1 cm Durchmesser, 5 cm Höhe) werden aus neutraler oder schwach salzsaurer Lösung Sulfationen vollständig gebunden, während Telluratıonen quantitativ durchlaufen. Nach dem Waschen des Austauschers mit Wasser wird das Sulfat durch 10%ige Natriumchloridlösung eluiert. — Das sehr einfache und trennscharfe Verfahren wurde auf die Analyse von „Bikini-Asche" angewendet und darin ^{35}S nachgewiesen. Nach dem veröffentlichten Schema wird die Lösung der Substanz in 0,2 n Salzsäure über den Kationenaustauscher Amberlite IR 120 (H-Form) gegeben. Dem Durchlauf werden je 10 mg Jodid, Ruthenium, Tellurat und Sulfat als Trägersubstanzen beigemengt. Nacheinander werden Jod durch 3 n Salpetersäure und Ruthenium durch Perchlorsäure verkocht. In der mit Salzsäure angesäuerten restlichen Lösung wird Bariumsulfat durch Bariumchlorid gefällt. Das Bariumsulfat wird mit Natriumcarbonat geschmolzen, und der wäßrige Auszug der Schmelze wird nach der Einstellung des p_H-Wertes 6 auf den Anionenaustauscher gebracht. Der Durchlauf enthält das Tellurat. Das Sulfat wird durch 2 n Salzsäure eluiert und als Bariumsulfat gefällt. Dieses enthält den radioaktiven Schwefel.

[1] Jap. Analyst **7**, 73—76 (1958) [Japanisch] (mit engl. Zus.fass.). Univ. Tokyo (Japan). R. KLEMENT

Für die coulometrische Bestimmung von Chrom hat L. MEITES[1] eine neue Vorschrift angegeben. Gearbeitet wird bei konstantem Potential in der früher angegebenen Apparatur[2], in der das Chrom zunächst in 6 m Salzsäure bei —1,1 V gegen die gesättigte Kalomelelektrode zum zweiwertigen Chrom reduziert wird, wozu die Einstellung konstanter Stromstärke von 100 mA abgewartet wird. Bei einem Potential von —0,4 V wird das Chrom dann wieder oxydiert zu dreiwertigem Chrom; die hierzu notwendige Strommenge ist das analytische Maß. Die Lösung muß auf das sorgfältigste von Luftsauerstoff befreit sein. Empfohlen wird die Reinigung des Stickstoffs mit amalgamiertem Zink in 0,1 m Chrom(II)-chloridlösung, die 1 m ist an Salzsäure, und anschließendes Waschen mit Wasser und außerdem mit Chrom(II)-chloridlösung. Bis hinab zu 0,1 mg Cr lassen sich dann auf $\pm$ 0,1% genau bestimmen, 5 μg Cr noch auf $\pm$ 1%. Al, As^{V}, Fe^{II}, Mn, Alkali- und Erdalkalimetalle beeinflussen diese Resultate nicht. Sb und As^{III} werden zu den Wasserstoffverbindungen reduziert und durch den kräftigen Gasstrom mit verflüchtigt. Ag, Bi, Hg, Co und Ni werden zwar gleichzeitig zum Metall reduziert, nicht aber wieder oxydiert. Ce^{IV} und Fe^{III} werden ebenfalls zwar in erster Stufe bei —1,1 V mit reduziert, nicht aber bei —0,4 V wieder oxydiert. Cd, Cu, In, Pb, Tl, Sn^{II} und Sn^{IV}, auch Zn bilden bei der Reduktion Amalgame, die sich bei —0,4 V oxydieren lassen. Bei Gegenwart dieser Elemente wird daher vor einer Oxydation des Chroms das Elektrodenquecksilber durch reines Quecksilber ersetzt. Ist die Probe nur durch Zink verunreinigt, so kann es bei —0,8 V von der Anode gelöst werden, ohne daß Chrom reoxydiert wird. Uran, das bei —1,1 V zu dreiwertigem Uran reduziert und bei —0,4 V mit oxydiert würde, läßt sich ebenfalls vor der Chromoxydation elektrolytisch bei —0,8 V oxydieren und auf diese Weise eliminieren. Molybdän stört die Analyse nur in größeren Mengen, Vanadium muß entfernt werden (Cinchonin-Salzsäure).

Die Methode wird an einer Reihe Eisenlegierungen geprüft und liefert mit Angaben des NBSt gut übereinstimmende Werte. Die Legierungen werden hierzu in Salzsäure-Salpetersäure gelöst, zur Nitratentfernung mit Salzsäure abgeraucht und in 6 m Salzsäure aufgenommen.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 364—372 (1958). Polytechn. Inst. of Brooklyn, N.Y. (USA). — [2] MEITES, L.: Analyt. Chemistry **27**, 1116 (1955); vgl. diese Z. **150**, 203 (1956). K. CRUSE

Zur Trennung von Molybdän und Rhenium verwenden D. I. RJABČIKOV und L. V. BORISOVA[1] Anionit EDE-10. Verff. untersuchen das Verhalten der beiden Elemente an diesem Austauscher unter statischen Bedingungen in verschiedenen Lösungsmitteln und stellen eine sehr scharfe Trennung der beiden Elemente fest wenn in phosphorsaurer Lösung gearbeitet wird. Verff. führen dies auf die Bildung eines komplexen, großvolumigen Molybdänanions zurück: $12\ Na_2MoO_4 + 9\ H_3PO_4 \rightleftharpoons H_7[P(Mo_2O_7)_6] + 8\ Na_3PO_4 + 10\ H_2O$, welches mit aktiven Gruppen des Austauschers in Wechselwirkung treten kann. Auf Grund von Versuchen mit Testgemischen schlagen Verff. zur Trennung von Molybdän und Rhenium vor, nach Aufgeben der Analysenlösung auf die Säule Rhenium mit 2 m Phosphorsäure und Molybdän mit 10%iger Natronlauge auszuwaschen. Zur Trennung der beiden Elemente in Mineralien ergibt sich folgende *Vorschrift*: Die Probe wird im Erlenmeyer-Kolben mit Salpetersäure erhitzt, bis Molybdän vollständig als Molybdänsäure ausgefällt ist. Den weißen Niederschlag löst man in 10%iger Natronlauge, filtriert von etwa ausfallenden Hydroxyden der Begleitmetalle und von Kieselsäure ab und säuert mit Phosphorsäure auf p_H 2 an. Die Lösung gibt man auf die Trennsäule (Länge 20 cm, ⌀ 1 cm), die mit Anionit EDE-10 gefüllt ist. Dabei wird Molybdän adsorbiert, während Rhenium mit 2 m Phosphorsäure ausgewaschen wird. Die Vollständigkeit der Trennung prüft man

durch Messung der Aktivität von ^{186}Re, das als Indicator zugegeben wird, oder durch die Farbreaktion mit Rhodanid und Zinn(II)-chlorid. Das Eluat wird auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und in einem aliquoten Teil der Gehalt an Rhenium bestimmt. Dann wäscht man die Säule mit Wasser nach und eluiert das adsorbierte Molybdän mit 10%iger Natronlauge. — Das Verfahren kann auch zur Trennung von *Technetium* und bestrahltem Molybdän dienen.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 155—161 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Vernadski-Inst., Akad. Wiss. Moskau (UdSSR). H. Wunderlich

Fluor. Nach Z. G. Szabó, M. T. Beck und K. Tóth[1] kann das bekannte Verfahren der colorimetrischen Fluoridbestimmung, das auf der Messung der Extinktionsabnahme von Eisen(III)-rhodanidlösung beruht, dadurch empfindlicher gestaltet werden, daß man die Extinktionsänderung in der organischen Phase nach dem Ausschütteln mit n-Amylalkohol mißt. Die Genauigkeit der Bestimmung beträgt $\pm$ 5%. Nach diesem Verfahren lassen sich 40—100 μg Fluorion/50 ml Lösung oder auch 100—800 μg Silicofluorid/50 ml bestimmen. Phosphat- und Aluminiumionen sowie verschiedene organische Säuren stören die Bestimmung und müssen vorher entfernt werden. — *Ausführung.* 5 ml einer $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ m Ammoniumeisen(III)-sulfatlösung und 8 ml 0,1 m Natriumrhodanidlösung werden gemischt und mit der zu prüfenden Lösung versetzt, die 10—100 μg Fluorid enthält. Das Volumen wird auf 50 ml gebracht und der p_H-Wert auf 2,9 eingestellt. Die Lösung wird mit 15 ml n-Amylalkohol extrahiert. Nach Trennung der Phasen wird die Extinktion der amylalkoholischen Schicht mit dem Filter S 50 (Pulfrich-Photometer) gemessen. Eine gleichzeitig angesetzte Blindprobe ist ebenso zu untersuchen.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 181—185. Univ. Szeged (Ungarn). H. Zimmer

Zur maßanalytischen Bestimmung von Chlorid empfiehlt E. Dannenberg[1] die Titration mit Quecksilber(II)-nitratlösung und Diphenylcarbazon als Indicator. Der Farbumschlag erfolgt von Farblos nach Rosaviolett. Auf 250 ml Lösung genügt ein Überschuß von 0,05 ml 0,1 n Quecksilber(II)-nitrat, um den Umschlag hervorzurufen. Bestimmbar sind alle farblosen und ionisierten Chloridlösungen, auch Kupferchlorid, während Eisenchlorid nicht erfaßbar ist. Im Gegensatz zu den Titrationen nach Mohr oder Volhard stören Phosphat und Carbonat nicht. Das Verfahren ist zur *Untersuchung von Harnen* und nach Ausfällen des Eiweißes mit Alkohol auch zur *Choridbestimmung in Seren* geeignet. Es kann auch zur Titration von reinen Salzsäurelösungen dienen, wodurch eine Möglichkeit zur Titerstellung der Salzsäure gegeben ist. — *Herstellung der Titrationslösung.* Man löst 10,83 g gelbes Quecksilber(II)-oxyd nach Befeuchten mit etwas Wasser in 3—4 ml konz. Salpetersäure und füllt auf 1000 ml auf. Falls das Quecksilber(II)-oxyd nicht rein genug ist, muß die Lösung gegen 0,1 n Natriumchloridlösung eingestellt werden. — Zur *Titration* fügt man zu der neutralen Lösung 1—3 Tropfen konz. Salpetersäure und 10 Tropfen 0,5%ige alkoholische Diphenylcarbazonlösung.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 315—316 (1958). Hosp. Mixto, Santiago del Estero (Argentinien). H. Zimmer

Zur Analyse von Mischungen von Chloriden und Bromiden machen I. Ubaldini und F. Capizzi Maitan[1] neue Angaben, insbesondere mit Berücksichtigung des *Ionenaustausches.* — Das Verfahren von L. Nebbia und B. Pagani[2] ist nach den Verff. sehr ungenau, weil das durch zugesetztes Bromat aus dem anwesenden Bromid befreite Brom mit dem zur Extraktion dieses Broms verwendeten ungesättigten Kohlenwasserstoff reagiert. *Die Bestimmung von Chlorid* kann auf 1% genau oder besser mit einer etwas abgeänderten Methode von R. Berg[3] erfolgen. — *Ausführung.* Die mit Aceton im Verhältnis 2 : 1 verdünnte Lösung der Halogenide

wird mit Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5—7% versetzt. Aus einer Bürette läßt man dann tropfenweise eine etwa 0,05 m Kaliumbromatlösung so lange zufließen, bis man um die einfallenden Tropfen nicht mehr die gelbbraune Farbe des Broms wahrnimmt. Nun fügt man noch 1—2 ml Bromatlösung hinzu, schüttelt um und titriert das Chlorid in gewohnter Weise mit Silbernitrat. — *Zur Bromidbestimmung* eignet sich die Oxydation des Bromids durch Bromat in Abwesenheit von Aceton; das freigemachte Brom wird durch Schwefel- oder Tetrachlorkohlenstoff (I) extrahiert und schließlich der Überschuß an Bromat titriert. *Ausführung.* Die Lösung mit den Halogeniden wird in einem Scheidetrichter mit 40%iger Schwefelsäure bis zu einem Gehalt an freier Säure von etwa 10% und dann aus einer Bürette mit 0,1 n Kaliumbromatlösung versetzt. Es wird ein auf das anwesende Bromid bezogener Überschuß von 4—5 ml angewendet. Man extrahiert das in Freiheit gesetzte Brom mit I, wobei für etwa 200—250 mg Br 8—10 Extraktionen mit je 10—15 ml I genügen. Das überschüssige Bromat wird nach Zusatz von Kaliumjodid und einigen Tropfen 3%iger Ammoniummolybdatlösung mit 0,1 n Thiosulfatlösung titriert. Gleichzeitig wird eine Blindprobe mit der gleichen Menge 0,1 n Bromatlösung ausgeführt. Aus der Differenz des Verbrauches an Thiosulfat für die Blindprobe und für die unbekannte Probe errechnet sich der Bromidgehalt unter Verwendung des Faktors 6,659 mg Br je ml 0,1 n Thiosulfat. — *Sehr kleine Chloridmengen* fällt man in der von Brom befreiten Lösung als Silberchlorid und bestimmt in diesem das Silber mittels Mercaptobenzthioazol[4]. *Ionenaustausch-Verfahren zur Bestimmung sehr kleiner Mengen des einen Halogens neben dem anderen.* Ein Anionenaustauscher in Sulfatform (30 ml Amberlite IRA 400) bindet sowohl Chlorid als auch Bromid (etwa 4—5 mval Halogen). Beim Behandeln des beladenen Austauschers mit 2%iger Schwefelsäure befindet sich das gesamte Chlorid in den ersten 250—300 ml des Eluates, während das Bromid kaum abgelöst wird[5]. In diesem Eluat werden Chlorid und Bromid nach den vorher beschriebenen Verfahren bestimmt. Enthalten die Probelösungen färbende Stoffe, so arbeitet man folgendermaßen: Man fällt die Halogene als Silbersalze aus, filtriert ab und wäscht in üblicher Weise. Unter leichtem Erwärmen löst man die Silberhalogenide in konzentriertem Ammoniak zu einer völlig klaren Lösung, die man nach dem Erkalten auf eine mit 30 ml Kationenaustauscher gefüllte Säule bringt (Amberlite IR 120 in Ammoniumform, hergestellt durch Behandlung mit 200—300 ml 2 n Ammoniumsulfatlösung). Man wäscht zuerst mit 100—150 ml konzentriertem Ammoniak und dann mit der gleichen Menge Wasser nach und bestimmt in diesen Durchläufen nach dem Verjagen des Ammoniaks die Halogene nach den beschriebenen Verfahren. — Man kann die Halogenide auch auf folgende Weise *trennen*: 30 ml Amberlite IRA 400 werden mit Alkalichlorid bzw. -bromid behandelt. Läßt man nun eine Lösung, die beide Halogenide enthält, durch den Austauscher laufen, so resultiert ein Durchlauf, in dem nur Chlorid bzw. nur Bromid vorhanden ist. Wenn a das Gewicht der Summe von Natriumchlorid und -bromid und b das Gewicht des Bromides nach dem Durchlauf durch eine Säule in der Bromidform bedeuten, so ist das Gewicht des ursprünglichen Chlorides = 1,3147 (b—a). Ist umgekehrt b das Gewicht des Chlorides nach Passieren einer Säule in Chloridform, so ergibt sich das Gewicht des Bromides in der Ausgangsmischung zu 2,3148 (a—b).

[1] Ann. Chimica **48**, 209—217 (1958). Politecnico. Mailand (Italien). — [2] Chim. e Ind. [Milano] **36**, 14 (1954). — [3] Diese Z. **69**, 342 (1926). — [4] Ubaldini, I., u. L. Nebbia: Ann. Chimica **41**, 181 (1951); vgl. diese Z. **137**, 271 (1952/53). — [5] Siehe Rieman III, W., u. S. Lindenbaum: Analyt. Chemistry **24**, 1199 (1952); vgl. diese Z. **140**, 197 (1953); R. C. de Geiso, W. Rieman III u. S. Lindenbaum: Analyt. Chemistry **26**, 1840 (1954); vgl. diese Z. **148**, 274 (1955/56). R. Klement

Eine Nachweisreaktion für Perchlorat beschreiben F. Feigl und D. Goldstein[1]. Erhitzt man die perchlorathaltige Substanz mit Cadmiumchlorid, so entsteht durch Oxydation freies Chlor, das mit Thio-Michlers-Keton (4,4′-Bisdimethylaminothiobenzophenon) oder Fluorescein-Bromid nachgewiesen werden kann. — *Ausführung.* Ein Tropfen der zu prüfenden Lösung wird mit 1 Tropfen 2%iger Cadmiumchloridlösung im Mikroreagensglas versetzt, zur Trockne gedampft und 10 min auf 160° C erhitzt. Das Mikroreagensglas wird in einer Asbestplatte befestigt, ein Streifen Reagenspapier über der Mündung angebracht und das Reagensglas mit einer Mikroflamme erhitzt. Enthält die Probe Perchlorat, so wird das Thio-Michlers-Keton-Papier blau gefärbt (Erfassungsgrenze 1 μg ClO_4^-), während das mit Fluorescein-Bromid imprägnierte Papier sich rot färbt (Erfassungsgrenze 5 μg ClO_4^-). In Gegenwart von Chlorat und Nitrat muß zur zu prüfenden Lösung das gleiche Volumen an konz. Salzsäure vor dem Eindampfen zugesetzt werden. Es lassen sich so 1 μg ClO_4^- neben 1000 μg Nitrat oder Chlorat mit Thio-Michlers-Keton nachweisen. — *Bereitung der Reagenspapiere.* Filtrierpapier wird mit einer 0,1%igen Lösung von Thio-Michlers-Keton in Benzol bzw. mit einer schwach alkalischen Lösung, enthaltend 0,1 g Fluorescein und 0,5—0,8 g Kaliumbromid getränkt und an der Luft getrocknet.

[1] Microchemical J. **2**, 105—108 (1958). Min. Agricult. Rio de Janeiro (Brasilien).
H. Zimmer

Bromionen können polarographisch bestimmt werden, wenn der Polarographie eine Oxydation zu Bromat vorgeschaltet wird. L. Kékedy, F. Mánok und I. Albu[1] nehmen diese Oxydation mit Natriumhypochlorit in Acetatpufferlösung von $p_H \sim 7$ vor und polarographieren auf diese Weise Brommengen von 10—200 μg mit dem in der Polarographie üblichen Fehler. Ist Jodid zugegen, dann wird zuvor in der Kälte mit Wasserstoffperoxyd Jod abgeschieden und mit Chloroform extrahiert. Sollen Mineralsalze auf den Bromgehalt untersucht werden, dann wird die Extraktion des Bromids mit Alkohol empfohlen. Die Methode ist auch für die Analyse auf Bromid neben Brom geeignet.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **7**, 61—67 (1956) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Univ. Cluj (Rumänien).
K. Cruse

Die Methode von Fleury und Lange[1] zur Bestimmung von Perjodat (Reduktion mit überschüssigem Arsenit in Natriumhydrogencarbonatlösung) läßt sich nach A. F. Reid[2] auch als *Mikromethode* zur Bestimmung geringer Mengen Perjodat verwenden, wenn die überschüssige Arsenitmenge potentiometrisch mit verdünnter Jodlösung zurücktitriert wird. 0,5 Mikromol Perjodat lassen sich dann noch mit einem Fehler von 1% bestimmen, 0,05 Mikromol mit einem Fehler von etwa 3%. Der Titer der verwendeten Jodlösung läßt sich noch bei einer 0,0001 n Lösung mit einem Fehler von 0,4% bestimmen, wenn dafür gesorgt wird, daß im Äquivalenzpunkt die Lösung 1%ig an Kaliumjodid ist.

[1] Fleury, P. F., u. J. Lange: J. pharm. chim. **17**, 196 (1933). — [2] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 236—240. National-Univ. Canberra (Australien).
H. Wunderlich

Eisen. *Über eine neue Methode zum mikrochemischen Nachweis des Eisen(III)-ions* berichtet E. Schwimmer[1] auf Grund der Beobachtung, daß *Diäthylparaphenylendiamin* bzw. dessen mit anorganischen Säuren gebildeten Salze mit Eisen(III)-ionen eine rosa Farbreaktion liefern. Zur *Tüpfelprobe* vermischt man einen Tropfen der wäßrigen 1%igen Reagenslösung mit einem Tropfen der wäßrigen Probelösung. Erscheint binnen 30 sec die Rosafärbung, so ist Eisen(III) zugegen. Erfassungsgrenze 0,06 μg, Grenzverdünnung 1 : 800000. Zum *Makro-*

nachweis benutzt man eine 1%ige benzolische Lösung der Base und schüttelt 1 ml dieser Lösung mit 1 ml Probelösung. Wenn mindestens 0,1 μg Eisen(III)-ion vorhanden ist, färbt sich die wäßrige Phase rosa. Grenzverdünnung 1 : 10000000. Die Reagenslösung wird während des Stehens rosafarbig, daher ist der Nachweis nur dann positiv, wenn die Farbe innerhalb von 30 sec erscheint. Cr^{3+}, Mn^{4+}, NO_2^-, F^- sowie andere Oxydationsmittel stören den Nachweis.

[1] Acta chim. Acad. Sci. hung. **14**, 311—313 (1958). Budapest (Ungarn).
J. Plank

M. J. Holdoway und J. L. Willians beschreiben *eine colorimetrische Bestimmungsmethode von Eisen(III) mit Tris- (o-hydroxyphenyl)-phosphinoxyd* $(C_6H_4OH)_3PO$. Das Reagens gibt mit Eisen(III) in 0,3—2,5 n salpetersaurer Lösung einen violettroten Komplex, dessen Absorption im Bereich 0,02—0,1 mg Fe^{3+}/ml dem Lambert-Beerschen Gesetz folgt. Von Kationen stört nur Cer(IV); von Anionen bewirkt Oxalat schon in sehr geringer Konzentration (10 ppm) Störungen. F^-, Cl^-, SO_4^{2-}, HPO_4^{2-}, BO_3^{3-} sind in den Konzentrationen 0,19; 0,35; 0,96; 0,24 bzw. 1,55 mg je 5 ml Lösung zulässig. — *Ausführung.* 5 ml der zu prüfenden Lösung, die etwa 1 n an Salpetersäure sein soll, wird mit 5 ml einer 0,02 m Lösung von Tris-(o-hydroxyphenyl)-phosphinoxyd in Äthanol versetzt und mit Äthanol auf 50 ml aufgefüllt. Die Messung erfolgt im Bereich des Absorptionsmaximums bei 530—550 mμ.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 376—380 (1958). Atomic Energy Res. Establ. Harwell (England).
H. Zimmer

Chelatkomplexe von Eisen(II) und Kobalt(II) mit 2,6-Bis-(4-äthyl-2-pyridyl)-4-phenylpyridin. Wird im *Terosole* (= 2,6-Bis-(4-methyl-2-pyridyl)-4-phenylpyridin) die Methyl- durch die Äthylgruppe ersetzt, so erhält man nach G. F. Smith und W. M. Banick[1] ein Reagens, welches mit Fe^{2+}- und Co^{2+}-Ionen Chelatkomplexe bildet, die sich für die colorimetrische Bestimmung dieser Metalle, besonders des Eisens, eignen. Cu^I reagiert damit nicht. Das Reagens, für welches der Name *Äthylterosole* vorgeschlagen wird, löst sich in Chloroform und Äthanol-Salzsäure. Der purpurfarbene Chelatkomplex des Eisens ist in Äthanol-Wassergemischen löslich, er kann im p_H-Bereich 1—12 mit Chloroform extrahiert werden. Sein Absorptionsmaximum liegt bei 570 mμ. — Die Extinktion des unter den gleichen Bedingungen erhältlichen Kobaltkomplexes, der zwischen p_H 3,1 und 8,8 stabil ist, kann bei 456 und 517 mμ gemessen werden.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 269—271 (1958). Univ. Urbana, Ill. (USA).
G. Denk

Kobalt. *Die Bestimmung von Kobaltspuren mit Hilfe von Aluminiumhydroxyd als Sammler* beschreiben T. Imai und K. Seto[1]. Sie studieren den Einfluß des p_H-Wertes der Lösung, den der Temperatur bei der Fällung des Aluminiumhydroxydes und den der Absetzzeit auf die Sammlungseigenschaften. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn das Aluminiumhydroxyd mit Natronlauge bei p_H 7,4—9,0 gefällt und anschließend 15 min bei 30° C digeriert wird. Bei der nachfolgenden colorimetrischen Kobaltbestimmung mit Nitroso-R-Salz stört die Anwesenheit von NH_4-Ionen die Farbentwicklung und erschwert die Einstellung auf den erforderlichen p_H-Wert. Aus diesen Gründen wird Natronlauge als Fällungsmittel vorgezogen.

[1] Jap. Analyst **7**, 4—8 (1957) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Tôhoku Univ. (Japan).
H. Pohl

Zur maßanalytischen Bestimmung kleiner Mengen Kobalt empfehlen L. Bartha und S. Görög[1] die Fällung als $KPb[Co(NO_2)_6]$ und die Erfassung des Nitritgehaltes des Niederschlages durch Reduktion mit Eisen(II)-hydroxyd. Es ergibt sich dabei das sehr günstige Äquivalentgewicht für Kobalt gleich 1/37 seines Atomgewichtes, weil die 6 Nitritgruppen im Niederschlag 36 Mole $Fe(OH)_2$ verbrauchen [$KNO_2 + 6\,Fe(OH)_2 + 5\,H_2O = NH_3 + KOH + 6\,Fe(OH)_3$] und für $1Co^{III}$ außerdem noch 1 $Fe(OH)_2$ benötigt wird. — *Ausführung.* Die 0,3—3 mg *Kobalt* enthaltende Lösung wird mit einer der voraussichtlichen Kobaltmenge entsprechenden Menge Kaliumsulfat, ferner mit 0,3 ml Eisessig, 1 ml 18%iger Bleiacetatlösung und 1 ml gesätt. Kaliumnitritlösung versetzt und zentrifugiert. Der abgesetzte Niederschlag wird mit gesättigter Kaliumsulfatlösung gewaschen, mit 90 ml Wasser in einen 250 ml-Kolben gespült und mit 10 ml 30%iger Natronlauge 10 min gekocht. Während des Kochens werden 10 ml 19%ige Eisen(II)-sulfatlösung (mit 30 ml konz. Schwefelsäure im Liter) zugetropft. Nach erfolgter Reduktion und Ansäuern der erkalteten Lösung wird die unverbrauchte Eisen(II)-menge mit 0,1 n Kaliumpermanganatlösung bestimmt. 1 ml 0,1 n $KMnO_4$ entspricht 0,1593 mg Co. Eine Blindprobe ist nötig. — Wenn die zu untersuchende Lösung nur 30—300 *µg Kobalt* enthält, versetzt man die neutrale Lösung mit 0,2 ml Eisessig, 0,5 ml 18%iger Bleiacetat- und 0,5 ml gesättigter Kaliumnitritlösung und, sofern die Lösung sulfatfrei ist, mit wenig Kaliumsulfat. Weiter verfährt man wie oben. Da jedoch die Titration mit 0,01 n Kaliumpermanganat ungenau ist, wird nach dem Ansäuern genügend Kaliumjodid zugegeben und das freigesetzte Jod mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung gemessen. 1 ml 0,01 n $Na_2S_2O_3$-Lösung entspricht 15,93 µg Co.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 48—50 (1958) [Ungarisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Univ. Szeged (Ungarn). J. Plank

Zur amperometrischen Titration von Kobalt in magnetischen Legierungen mit Kaliumhexacyanoferrat(III) empfehlen V. F. Toropova und O. S. Strekalova[1] folgendes modifiziertes *Verfahren:* 0,1—0,2 g der Legierung werden in Salpetersäure (1 : 1) unter Erwärmen gelöst. Nach dem Abrauchen der Stickoxyde versetzt man die Lösung mit 3—5 ml Schwefelsäure (1 : 4) und fällt unter Erwärmen das Kupfer durch Zugabe von 10%iger Natriumthiosulfatlösung aus. Man filtriert vom Niederschlag ab, wäscht nach und neutralisiert das mit den Waschwässern vereinigte Filtrat durch Zugabe von Ammoniak. Zu der neutralisierten Lösung gibt man 1—2 g Natriumtartrat, 10—15 ml 25%ige Ammoniak und 10—15 ml 0,1 m Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung. Den Überschuß an Ferricyanid titriert man mit eingestellter 0,1 m Kobaltsulfatlösung amperometrisch an einer rotierenden Platindraht-Mikroelektrode (600 U/min) bei dem Potential — 0,2 V (gegen die gesättigte Kalomelelektrode) zurück. Der Zeitbedarf für eine Bestimmung beträgt 20—30 min. Die mitgeteilten Analysenergebnisse zeigen einen mittleren Fehler von etwa 1%.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 140—141 (1958) [Russisch]. H. Wunderlich

A. K. Ždanov, V. A. Chadeev und G. P. Moiseeva[1] untersuchen die *Bestimmungsmöglichkeiten von Kobalt* durch *amperometrische Titration mit Kaliumhexacyanoferrat(III) in Gegenwart anderer Kationen.* Mengen bis hinab zu 0,3 mg Kobalt lassen sich mit einem mittleren Fehler von etwa 0,5% sicher erfassen. Die Bestimmung wird nicht gestört durch SO_4^{2-}-, NO_3^--, Cl^--, Acetat-, Tartrat- oder Citrationen; auch Zink und Cadmium stören selbst bei 50fachem Überschuß nicht. Gibt man geeignete Komplexbildner hinzu (Citrat- oder Tartrationen), so läßt

sich Kobalt noch neben beliebigen Nickelmengen bestimmen. Ebenso läßt sich 1 Teil Kobalt noch erfassen neben etwa 10 Teilen Kupfer, 160 Teilen Blei, 80 Teilen Wismut, 20 Teilen Eisen und 20 Teilen Chrom.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 137—140 (1958) [Russisch]. Mittelasiat. staatl. Lenin-Univ. UdSSR. H. WUNDERLICH

Über die papierchromatographische Trennung einiger isomerer Kobalt-, bzw. Chromkomplexe berichten E. BUCHAR und K. SUCHÝ[1]. Unter Anwendung verschiedener Lösungsmittelgemische gelingt die Trennung der beiden geometrisch isomeren *Triglycinkobalt(III)*-verbindungen. In einem Gemisch von Methanol-Eisessig (18 : 2) kann das violette *Dioxalatodiaquochromit* von den grünen *Dioxalatohydroxoaquo-* und *Dioxalatodihydroxochromiten* getrennt worden. Das violette Salz wandert weit (R_f 0,60), das grüne Dioxalatohydroxoaquochromit hat einen kleineren R_f-Wert (R_f 0,36) und das Dioxalatodihydroxochromit bleibt praktisch an der Startlinie. Die Trennung der cis- und trans-Isomere der Dioxalatodiaquochromite ist nicht vollkommen, die Flecke liegen eng nebeneinander und überdecken sich teilweise.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 45—46 (1958) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Univ. Prag (ČSR). J. PLANK

Die Destillation von trägerfreiem Ruthenium zur Abtrennung von anderen Spaltprodukten wird von T. KAMBARA[1] untersucht. Dabei erweist sich, daß die Destillation in Gegenwart von $(NH_4)_2S_2O_8$ in salpetersaurer Lösung bei gleichzeitiger Anwesenheit von $AgNO_3$ eine bessere Ausbeute bei der Destillation und einen höheren Dekontaminationsfaktor ergibt, als die bekannte Permanganatmethode. Dabei ist die benötigte Zeitspanne kleiner und der Endpunkt der Destillation läßt sich durch Aufnahme der Destillationskurve sehr genau bestimmen.

[1] Jap. Analyst **7**, 89—93 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Shizuoka Univ. (Japan). H. REUTER

III. Analyse organischer Stoffe

2. Qualitative und quantitative Analyse

Die potentiometrische Titration von Amiden in Essigsäureanhydrid führt D. C. WIMER[1] in folgender Weise aus: 6—9 · 10^{-3} Mol Amid werden mit Essigsäureanhydrid auf 100 ml aufgefüllt. 10 ml dieser Lösung werden in weiteren 100 ml Essigsäureanhydrid aufgenommen und mit 0,1 n Überchlorsäure (Zugaben von 0,05 ml) in Eisessig titriert. Als Indicator dient eine gegen eine Kalomelelektrode geschaltete Glaselektrode; die Kette wird zuvor 12 Std in Essigsäureanhydrid belassen. Als Brückenlösung dient 0,1 m Lithiumperchloratlösung in Anhydrid. Titriert werden insgesamt 41 Verbindungen (aliphatische und aromatische Amide, acetylierte Amine und Formylamine), die zum Teil sehr gut auswertbare Potentialsprünge von rund 100 mV liefern ($\Delta E/\Delta V$ liegt zwischen 100 und 560 mV). Auffällig ist, daß Formamid sehr viel besser mit Überchlorsäure in Dioxan titriert wird. Reinheitsprüfungen der untersuchten Amide nach dieser Methode lieferten Doppel-

werte, die sich, bei rund 98% liegend, nur um maximal 0,6% unterscheiden. Die Ergebnisse werden vor allem in bezug auf die wahrscheinlichen Gleichgewichtsreaktionen und den Reaktionsmechanismus diskutiert.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 77—80 (1958). Abbott Labs., North Chicago, Ill. (USA).
K. Cruse

Über die Anwendung von Thiocarbohydrazid zur gravimetrischen Bestimmung von Aldehyden und einigen Ketonen berichten Cl. Duval und N. Dat Xuong[1] im Anschluß an frühere Mitteilungen[2]. Das Reagens ist leicht in 80%iger Ausbeute durch Kondensation von 1 Mol Schwefelkohlenstoff mit 2 Molen Hydraziniumhydroxyd herzustellen[3]. Die Hydrazone der Aldehyde und Ketone fallen als rote oder gelbe Niederschläge quantitativ aus, wenn man das Gemisch eines Mols Reagens (gelöst in 50%igem Äthanol) mit 2 Molen des Aldehyds oder Ketons (gelöst in 96%igem Äthanol) 30 min auf 50° C erwärmt. Die Niederschläge werden wiederholt mit Wasser und anschließend mit 50%igem Äthanol gewaschen. Nach dem Trocknen besitzen sie die Zusammensetzung $CS(NH-N=CH-R)_2$. Die höchstzulässigen Trockentemperaturen haben die Verff. auf der Thermowaage für Einwaagen von 100—200 mg und eine Erhitzungsgeschwindigkeit von 150° C/Std bestimmt. Diese Temperaturen (in Klammern) sind nachstehend angegeben, für die *Thiocarbohydrazide* von: *Formaldehyd* (96° C), *Acetaldehyd* (100° C), *Octanal* (80° C), *Nonanal* (141° C), *Decanal* (77° C), *Dodecanal* (166° C), *Furfurol* (110° C), *α-Thenaldehyd* (134° C), *Benzaldehyd* (123° C), *Cuminaldehyd* (101° C), *p-Chlorbenzaldehyd* (166° C), *o-Chlorbenzaldehyd* (164° C), *Zimtaldehyd* (77° C), *p-Dimethylaminobenzaldehyd* (253° C), *Anisaldehyd* (161° C), *p-Hydroxybenzaldehyd* (178° C), *Salicylaldehyd* (195° C), *Veratrumaldehyd* (95° C), *Piperonal* (100° C), *β-Resorcylaldehyd* (104° C), *Acetophenon* (160° C), *Diisopropylketon* (149°C).

[1] Mikrochim. Acta **1956**, 747—749 (1956). — [2] Duval. Cl., u. T. Ba Loc: C.R. Acad. Sci. (Paris) **240**, 1097 (1955); Mikrochim. Acta **1956**, 458; vgl. diese Z. **148**, 147 (1955/56); **155**, 116 (1957). — [3] Stollé, R., u. P. E. Bowles: Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 1099 (1908).
A. Kurtenacker

Zur Bestimmung von Formaldehydbisulfit und Formaldehydsulfoxylat (Rongalit) nebeneinander hat L. Maros[1] neue Methoden entwickelt. Formaldehydbisulfit kann in Gegenwart von Formaldehyd mit der Methode von W. Ledbury und R. Taylor[2] nicht bestimmt werden, da das in der alkalischen Lösung gebildete Hypojodit den freien Formaldehyd oxydiert. Wird aber der alkalischen Lösung Kaliumcyanid zugesetzt, so entsteht aus dem Formaldehyd das Salz der Glycolsäure und die jodometrische Bestimmung des frei gewordenen Sulfits ist ungestört. Formaldehydsulfoxylat kann in schwach saurer Lösung unmittelbar jodometrisch gemessen werden, bleibt in alkalisch-cyanidischer Lösung unverändert und so ist die Bestimmung beider nebeneinander ausführbar. — *Ausführung.* Man löst 0,4 g Substanz in einem 100 ml-Meßkolben, verdünnt 10 ml der aufgefüllten Lösung auf 40 ml, setzt 0,5 ml 40%ige Formaldehyd-, 1 ml 20%ige Natriumacetat- und 1 ml 10%ige Essigsäurelösung zu und titriert in Gegenwart von Stärke mit 0,1 n Jodlösung. Einen zweiten Anteil von 10 ml überschichtet man zwecks Sauerstoffausschluß mit 5 ml Pentan, gibt 2 ml 10%ige Natronlauge und 0,2—0,3 g Kaliumcyanid hinzu und verdünnt nach 2—3 min auf 120 ml. Nun wird die Lösung in Gegenwart von Methylrot mit 50%iger Schwefelsäure tropfenweise angesäuert, es werden 2—3 Tropfen Überschuß zugegeben und nach Zufügen von 0,2 g Kaliumjodid wird in Gegenwart von Stärke mit 0,1 n Jodlösung titriert. Das erste Ergebnis entspricht der Rongalitmenge, das zweite gibt die Summe von

Rongalit und Formaldehydbisulfit an, mithin entspricht die Differenz der Menge an diesem.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 41—44 (1958) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Univ., Budapest (Ungarn). — [2] J. Soc. chem. Ind. **45**, 85 T (1926); vgl. diese Z. **71**, 202 (1927). J. Plank

Zur Bestimmung von Crotonaldehyd in Gemischen mit Acetaldehyd, Essigsäure, Aceton und Acetylen schlagen K. P. Stoljarov und V. S. Ivanov[1] Extinktionsmessungen einer Lösung der Stoffe bei 365 mμ vor. Diese Wellenlänge liegt in der Nähe eines Absorptionsmaximums des Crotonaldehyds, während die anderen 3 Stoffe bei 365 mμ wenig absorbieren. Verff. geben Grenzkonzentrationen für die Begleitstoffe an, unterhalb derer eine genaue Bestimmung des Crotonaldehyds in wäßriger Lösung noch möglich ist. Die Bestimmung des Crotonaldehyds in Acetaldehyd, Aceton oder Essigsäure ist nach diesem Verfahren innerhalb weiter Grenzen (bis zu 10%) mit einem absoluten Fehler von etwa 0,02—0,06% möglich.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 246—249 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Staatl. Ždanov Univ., Leningrad (UdSSR). H. Wunderlich

Die papierchromatographische Trennung organischer und anorganischer, in Form ihrer Calciumsalze vorliegender Säuren beschreiben R. Monnet, F. Sabon, A. Viala und H. Grignon[1]. — *Ausführung*: Man versetzt die Lösung der Calciumsalze mit so viel 0,1 n Oxalsäurelösung, daß diese gerade zur Fällung des Calciums ausreicht, zentrifugiert und verdünnt das Zentrifugat so, daß es in 100 ml je 300—600 mg der zu bestimmenden Säuren enthält. Dann entwickelt man auf Papier Arches 302 je 0,005—0,01 ml der Testlösungen nach deren Trocknen mit I. n-Propanol-Eucalyptol-96—98%iger Ameisensäure-Wasser (50:50:20:20); II. n-Propanol-Methylbenzoat-Ameisensäure-Wasser (60:40:20:20); III. n-Butanol-Methylbenzoat-Ameisensäure-Wasser (75:25:20:12), bei etwa 21° C absteigend, bis die Lösungsmittelfront 35—45 cm weit gewandert ist und trocknet die Chromatogramme 5 Std lang im Luftstrom. Zur Sichtbarmachung besprüht man mit einer Lösung von 0,04 g Bromphenolblau in 100 ml 95grädigem Alkohol, der man soviel 0,1 n Natronlauge zusetzt, daß sie purpurrot gefärbt ist. Bei Anwesenheit von Borsäure bereitet man die Indicatorlösung unter Verwendung von 10% Glycerin enthaltendem Alkohol. Verff. stellen unter Verwendung der angeführten Fließmittel folgende R_f-Werte fest (Reihenfolge: I, II, III): *Zuckersäure* 0,00; 0,036; 0,00. *Galaktogluconsäure* 0,00; 0,043—0,045; 0,012. *Glucoheptonsäure* 0,029—0,030; 0,095—0,10; 0,034—0,035. *Gluconsäure* 0,046; 0,165; 0,075. *Glycerinphosphorsäure* 0,01; —; —. 0,045; 0,16; 0,08. *Bromwasserstoffsäure* 0,062; 0,205; 0,097. *Glutaminsäure* 0,058—0,063; 0,265; 0,125. *Ascorbinsäure* 0,185; 0,365; 0,245. *Phosphorsäure* 0,265; 0,355; 0,295. *Camphersulfonsäure* 0,29; 0,44; 0,36. *Hypophosphorsäure* 0,375; 0,445; 0,415. *Borsäure* 0,415; 0,495; 0,455. *Milchsäure* 0,665; 0,715; 0,69. *Lävulinsäure* 0,74; 0,81; 0,80. Die Arbeit enthält außerdem mehrere Arbeitsvorschriften für die Untersuchung einiger Calciumsalz-Kombinationen.

[1] Pharmac. Weekbl. **93**, 224—230 (1958). Fac. Méd. Pharmac. Algier (Algerien). K. Söllner

Die Trennung niederer Fettsäuren durch Hochspannungspapierelektrophorese hat nach D. Gross[1] nicht allein den Vorteil, daß die Homologen C_2 bis C_5 sehr schnell, sondern daß sie sogar von Ameisensäure getrennt werden. Gearbeitet wird auf Whatman 3 MM mit 0,1 m Ammoniumcarbonatlösung (p_H 8,9) und bei 100 V/cm. Nach dem Trocknen der Streifen bei 80° C (10 min) wird mit 0,025%iger

Bromphenolblaulösung in Aceton-Wasser (9 : 1) besprüht, die 100 mg Citronensäure in 100 ml enthält. Die ersten 5—6 homologen Fettsäureanionen sind in 20 min, die höheren (bis C_{10}) in 45 min getrennt. Die Nachweisgrenze von 2—5 μg kann bis zu 0,5—1 μg herabgedrückt werden, wenn mit 0,05%iger Bromkresolpurpurlösung in 90%igem Alkohol besprüht wird; doch sind diese Färbungen unbeständig. 5—25 μg Fettsäure können auch quantitativ aus der Fleckengröße abgeschätzt werden. Die Wanderweiten sind dem Molekulargewicht umgekehrt proportional.

[1] Nature (London) **181**, 264—265 (1958). Tate and Lyle, Ltd., Keston, Kent (England). K. Cruse

Sulfidische, sulfoxydische und sulfonische Gruppen in langkettigen Fettsäuren können nach H. Susi, N. H. Koenig, W. E. Parker und D. Swern[1] aus den IR-Spektren nachgewiesen und bestimmt werden. Die Spektren folgender substituierter Undecylsäuren wurden gemessen: 1. Sulfide: $RS(CH_2)_{10}COOH$, R = Methyl, n-Propyl, n-Octyl, n-Dodecyl, 2-Hydroxyäthyl, Acetyl, Benzyl oder Phenyl; 2. Sulfoxyde: $RSO(CH_2)_{10}COOH$, R = Methyl, n-Octyl, Benzyl oder Phenyl und 3. Sulfone: $RSO_2(CH_2)_{10}COOH$, R = n-Propyl, n-Octyl, Benzyl oder Phenyl; weiterhin die Methylester der Sulfoxyde und Sulfone mit den Gruppen n-Octyl, Benzyl oder Phenyl am Schwefelatom. Die Einführung von —S—, —SO— oder —SO_2— in die Kohlenstoffkette beeinflußt bei der Untersuchung der Festkörper wesentlich die für analytische Zwecke herangezogene Bandenverschiebung langkettiger Fettsäuren und erschwert den Nachweis der Kettenlänge. Dagegen gibt die Aufteilung in viele Einzelbanden bei der KBr-Preßtechnik von 1350—1180 cm^{-1} die Möglichkeit, sehr nahe verwandte Schwefelderivate der Fettsäuren zu unterscheiden. Zur Unterscheidung der Verbindungsklassen untereinander — Sulfide, Sulfoxyde, Sulfone, unsubstituierte Fettsäuren — eignen sich am besten die IR-Spektren der Ester in Schwefelkohlenstofflösung (1%ig). Die Arbeit enthält die IR-Spektren der oben angeführten Sulfoxyde, Sulfone und der Ester von 900 bis 1400 cm^{-1} und die der Sulfide von 1150—1400 cm^{-1}. Ausführlich wird der Einfluß des Schwefels auf die Bandenverschiebung langkettiger Fettsäuren diskutiert. Nähere Einzelheiten für qualitative oder quantitative Bestimmungen bzw. Analysenbeispiele sind nicht angegeben.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 443—446 (1958). U. S. Dptm. Agric., Philadelphia Pa. (USA). H. Specker

Die Trennung von Mono-, Di- und Trichloressigsäure mittels eines Anionenaustauschers beschreiben W. Funusaka, T. Kojima, M. Ishibashi und H. Kita[1]. Amberlite IRA 410 (100—150 mesh) wird in der CO_3- bzw. NO_3-Form verwendet. Durch Ammoniumcarbonat- bzw. Natriumnitratlösung werden die Säuren in obiger Reihenfolge eluiert. Die Bestimmung der einzelnen Säuren im Eluat erfolgt nach der Hydrolyse mit Lauge durch argentometrische Titration des Chlorides nach Volhard. Aus den abgebildeten Diagrammen ergeben sich z. B. folgende *Arbeitsweisen:* 1. CO_3-Form des Austauschers, Trennung von Mono- (I) und Dichloressigsäure (II) durch 0,15 n Ammoniumcarbonatlösung. Für I werden etwa 600 ml zum Eluieren benötigt, nach einem Leerlauf von etwa 100 ml erscheint II im Durchlauf, und nach weiteren etwa 500 ml ist II vollständig eluiert. 2. NO_3-Form des Austauschers, Trennung von I, II und Trichloressigsäure (III) durch Natriumnitratlösung (IV). Durch etwa 300 ml 0,05 n IV wird I abgelöst, II wird durch etwa 300 ml 0,1 n IV eluiert, und zum Eluieren von III werden etwa 300 ml 1 n IV gebraucht. Die Austauschersäule ist 20 cm hoch bei einem Durchmesser von

1,2 cm, die Durchlaufgeschwindigkeit beträgt 1,5 ml/min. Das Verfahren wird zur Analyse von technischer Monochloressigsäure benutzt. Die erhaltenen Werte sind gut.

[1] Jap. Analyst 7, 69—73 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Univ. Kyoto (Japan). R. KLEMENT

Die Anwendung von Formaldehyd zur Vermeidung von Artefacten bei der chromatographischen Bestimmung von Ketosäuren beschreiben D. CAVALLINI und B. MONDOVI[1]. Bei der Behandlung der aus Ketosäuren und Dinitrophenylhydrazin entstehenden Dinitrophenylhydrazone mit Alkali können sich aus dem überschüssigen Phenylhydrazin Produkte bilden (z. B. 1-Hydroxy-6-nitro-1,2,3-benztriazol[2]), die bei der nachfolgenden Chromatographie stören. Zur Vermeidung dieser Artefacte wird das überschüssige Dinitrophenylhydrazin vor der Behandlung mit Alkali mit Formaldehyd entfernt. Die Methode wird an der Bestimmung von Brenztraubensäure und α-Ketoglutarsäure im menschlichen Blut erläutert. Als Mittelwert bei 11 gesunden Personen wird ein Gehalt von 0,34 mg% ± 0,12 Brenztraubensäure und 0,10 mg% ± 0,07 α-Ketoglutarsäure gefunden. — *Ausführung.* Zur schnellen Verarbeitung des Serums werden etwa 10 ml venöses Blut direkt in 35 ml eines vorbereiteten Gemisches von Wasser, 10%iger Natriumwolframatlösung und 0,67 n Schwefelsäure (30 : 10 : 10) zur Enteiweißung gegeben. Die genaue Blutmenge wird durch Auswägen ermittelt. Nach 10 min Rühren und Filtrieren wird eine bekannte Menge des Filtrates (15—20 ml) mit 2 ml einer 0,2%igen 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung in 2 n Salzsäure versetzt und das überschüssige Phenylhydrazin nach 15 min durch 3 Tropfen 30—40%igen Formaldehyd beseitigt. Nach dem Ausäthern (insgesamt 10—15 ml in 3 Portionen) wird der Äther abgedampft und die Lösung von etwa anhaftendem Wasser im Exsiccator befreit. Man setzt 1 ml 1 n Ammoniak und 1 ml Chloroform zu, schüttelt 1 min und zentrifugiert. 0,2 ml der überstehenden ammoniakalischen Lösung werden auf Filtrierpapier mit einem Gemisch von n-Butanol-Äthanol-Wasser (4 : 1 : 5) chromatographiert. Die Flecke werden herausgeschnitten, mit 1 n Natronlauge extrahiert, zentrifugiert und die einzelnen Hydrazone bei 440 mμ photometrisch bestimmt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) 2, 312—315 (1957). Centro Enzimologia CNR und Univ. Rom (Italien). — [2] TOWERS, G. H. N., u. D. C. MORTIMER: Nature (London) 174, 1189 (1954). URSULA BAUMANN

Polarographische Bestimmung von Flavean- und Rubeanwasserstoff. K. SUCHÝ[1] berichtet, daß in 1,0 n schwefelsaurer Lösung der beiden Verbindungen eine lineare Abhängigkeit zwischen der Stufenhöhe und der Konzentration besteht. Da die Halbstufenpotentiale außerdem genügend voneinander abweichen, ist ihre Bestimmung nebeneinander möglich. Verf. hat ferner die Alterung der Lösungen bei verschiedenen p_H-Werten untersucht und festgestellt, daß die Zeitfunktion der Wellenhöhe den für reversible monomolekulare Reaktionen gültigen Regeln folgt. Infolge seiner langsamen Zersetzung ist Rubeanwasserstoff zur *polarometrischen Titration von Kobalt* und anderen Metallen nicht geeignet.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat 64, 46—48 (1958) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Univ. Prag (ČSR). J. PLANK

Bei der arsenometrischen Bestimmung von Oxalat verwenden L. SZEKERES, M. ZERGÉNYI-BALÁZSFALVY und L. MOLNÁR[1] zur Oxydation des Oxalats aus Kaliumbromat gebildetes Hypobromit. — *Ausführung.* 10—20 ml einer 15—20 g Kaliumbromid im Liter enthaltenden 0,1 n Kaliumbromatlösung werden mit 10 ml

2 n Salzsäure versetzt und nach einigen Minuten mit 7,5 ml 5 n Natronlauge alkalisiert. Zu dieser Natriumhypobromitlösung gibt man die Oxalatlösung (5—10 ml 0,1 n Natriumoxalatlösung entsprechend), setzt 5 ml 50%ige Essigsäure zu und säuert nach einer halben Stunde mit 5 ml konz. Salzsäure an. Nach Zugabe von 1—2 Tropfen alkalischer 0,1 n Jod- und 1 ml Stärkelösung wird mit 0,1 n Arsenigsäurelösung auf Blau titriert.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 96—97 (1958) [Ungarisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Univ., Budapest (Ungarn). J. Plank

Die papierchromatographische Trennung der beiden isomeren Mononitro-p-toluidine gelingt nach A. Waksmundzki, J. Ościk und Z. Frelek[1] unter Verwendung von Whatman-Papier Nr. 3 mit dem Feuchtigkeitskoeffizient 1,48—1,51. Es wird mit wassergesättigtem n-Hexan als beweglicher Phase aufsteigend chromatographiert, bis die Lösungsmittelfront 18 cm gestiegen ist. Die R_f-Werte sind für *2-Nitro-p-toluidin* 0,50, für *3-Nitro-p-toluidin* 0,78. — *In Gemischen der 6 Mononitroderivate von o- und p-Toluidin* ist mit dem angewandten Lösungsmittelsystem eine Trennung von 4-Nitro-o-toluidin (R_f 0,46) und 2-Nitro-p-toluidin (R_f 0,50) nicht möglich. Die anderen Isomeren werden glatt getrennt. Durch Änderung des Lösungsmittels erreicht man zwar die Trennung von 4-Nitro-o-toluidin und 2-Nitro-p-toluidin (am besten mit 5%iger wäßriger Ameisensäurelösung), dafür bleiben andere Isomere ungetrennt. Eine vollständige Auftrennung des Sechsstoffgemisches gelingt durch zweidimensionale Papierchromatographie. Man chromatographiert zunächst wie zuerst angegeben mit n-Hexan in einer Richtung, trocknet dann an der Luft, taucht in 5%ige wäßrige Ameisensäurelösung, trocknet wieder bis zum Feuchtigkeitskoeffizient 1,50 und entwickelt das Chromatogramm in der zur ersten senkrechten Richtung mit n-Hexan.

[1] Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska (Lublin), Sect AA, **10**, 17—24 (1957) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Lehrk. f. phys. Chem. A. Kurtenacker

Bestimmung von p-Oxypropiophenon, Pinakon-Acetonverbindungen und Pinakolin. I. Gyenes und B. Stefkó[1] haben die Schmelzpunkte der drei Verbindungen in der Capillare und mittels der Koflerschen Mikromethode bestimmt. Für die Gehaltbestimmung eignet sich die Methode von I. Gyenes[2], also die Titration mit 0,1 n Kaliummethylatlösung unter Verwendung einer 0,1%igen Lösung von Azoviolett in Chlorbenzol als Indicator. Man löst p-Oxypropiophenon in Aceton, oder Aceton-Pyridin (4:1) die beiden anderen Verbindungen in Aceton-Pyridin-Methanol (70 + 30 + 2).

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 16—17 (1958) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Kőbányai Gyogyszerárugyár, Budapest. — [2] Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 237, 242 (1956); vgl. diese Z. **158**, 38, 79 (1957). J. Plank

Über die Bestimmung von α- und β-Chlornaphthalin sowie Naphthalin mit Hilfe der UV-Spektroskopie berichten A. P. Krešков, Ju. Ja. Michailenko und I. P. Smirenkina[1]. Verff. messen die Extinktion einer äthanolischen Lösung dieser Stoffe bei den Wellenlängen 310, 314 und 320 mμ und geben für die drei Stoffe folgende Extinktionskoeffizienten an [Liter/g · cm]:

	K_{310}	K_{314}	K_{320}
Naphthalin	1,842	0,542	0,136
α-Chlornaphthalin	2,061	2,083	0,899
β-Chlornaphthalin	1,451	1,021	1,940

Mit Hilfe dieser Koeffizienten und der bei den angegebenen Wellenlängen bestimmten Extinktionen erhält man ein System von drei Gleichungen mit drei Unbekannten, welches sich leicht auflösen läßt. Die nach dieser Methode erhaltenen Ergebnisse zeigen einen Fehler von 0—4,6%.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 242—245 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Mendelejew-Inst. chem. Technol., Moskau (UdSSR). H. Wunderlich

Zur Bestimmung von Naphthalin-2,6-disulfonsäure und Naphthalin-2,7-disulfonsäure nebeneinander hat W. Czerwiński[1] die von A. A. Spryskov und B. J. Karavajev[2] angegebene Benzidinmethode dadurch verbessert, daß er doppelte Fällung der 2,6-Verbindung verwendet. — *Ausführung.* Man wägt so viel von der zu untersuchenden Probe, daß darin 1—2 g der Säuren enthalten sind, und löst in 50—100 ml Wasser (wenn es sich um die Ca-Salze handelt, unter Zusatz einer kleinen Menge Salzsäure). Dann neutralisiert man mit 0,5 n Lauge gegen Phenolphthalein, verdünnt mit Wasser auf 175 ml und versetzt die siedende Lösung mit 25 ml 10%iger $BaCl_2$-Lösung, um vorhandenes Sulfat zu fällen. Ohne abzufiltrieren, fügt man nach einigen Minuten 50 ml Benzidinchloridlösung zu [20 g Benzidin + 25 ml Salzsäure (D 1,19) im Liter], gibt ein Thermometer in die Lösung, läßt auf 65—62° C abkühlen und filtriert den abgesetzten Niederschlag in einen Glasfiltertiegel G 3, der durch einen Wassermantel auf 66° C gehalten wird. Man wäscht mit kleinen Wasserportionen von etwa 63° C, spült den Niederschlag in das Fällungsgefäß zurück, verdünnt mit Wasser auf 175 ml, kocht auf, gibt 50 ml Benzidinchloridlösung zu, läßt auf 65—62° C abkühlen, filtriert wieder und wäscht mit warmem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion. Der Niederschlag wird dann mit 50 ml gegen Phenolphthalein neutralisiertem 95%igem Alkohol in den Titrierkolben gespült und mit 0,1 n Natronlauge bis zur 1 min beständigen Rotfärbung titriert. Der Verbrauch (a_1 ml) entspricht der 2,6-Säure. — Eine zweite gleichgroße Einwaage der Probe wird wie beschrieben behandelt mit dem Unterschied, daß man nach der Fällung zunächst auf Raumtemperatur, dann auf 0° C kühlt, in den auf 0° C gekühlten Tiegel filtriert und 5 ml mit je 5 ml nahezu auf 0° C gekühltem Wasser wäscht. Man spült mit 50 ml neutralisiertem Alkohol in den Titrierkolben und titriert wie oben. Von dem verbrauchten Volumen 0,1 n Natronlauge ist der auf die 2,6-Verbindung entfallende Anteil abzuziehen. Der Rest (a_2 ml) wird auf das 2,7-Isomere umgerechnet. Man findet % 2,6-Verbindung $= 14{,}4a_1 \cdot n/E$ und % 2,7-Verbindung $= (14{,}4a_2 \cdot n + 2{,}26)E$. Darin bedeuten n die Normalität der Titrierlauge, E die Einwaage in Grammen und 2,26 die Korrektur für die Löslichkeit der 2,7-Verbindung.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **1**, Nr. 1, 79—83 (1956) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Chem. Inst. Warschau (Polen). — [2] Ž. obšč. Chim. **22**, 1620 (1952).
A. Kurtenacker

W. P. Persianceva und V. A. Šneider[1] bestimmen *Naphthalin-2,6-disulfonsäure und Naphthalin-2,7-disulfonsäure in Nickelelektrolyten* colorimetrisch. Das Nickel wird vorher mit einem Kationit SDV-3 abgetrennt. — *Analysengang.* 5 ml des Elektrolyten werden mit Wasser auf 20—25 ml verdünnt und durch die Austauschersäule (200 × 15 mm) mit einer Geschwindigkeit von 5 ml/min geschickt. Anschließend wäscht man 10 min mit dest. Wasser. Lösung und Waschwasser bringt man in eine Platinschale, gibt dazu 10 ml 30%ige Natronlauge, dampft zur Trockne ein und erhitzt den Rückstand 10—15 min auf 320 ± 2° C. Nach Abkühlung gibt man zur Schmelze 35 ml Nitratgemisch (10 g Ammoniumnitrat in 100 ml konz. Schwefelsäure). Nach Beendigung der stürmischen Reaktion füllt man in einem Meßkolben mit dest. Wasser auf 100 ml auf und photometriert die gelbe Färbung unter Verwendung

von Blaufilter. Entsprechend wird auch die Eichkurve mit reiner Naphthalindisulfonsäure aufgenommen.

[1] Zavodskaja Laborat. **23**, 1298 (1957) [Russisch]. Chem.-technol. Mendelejev-Inst., Moskau. W. Böhm

Die Möglichkeit zur Identifizierung von Oxiranen (Epoxyden) *mittels IR-Spektroskopie* wird von J. Bomstein[1] untersucht. Gemessen werden von 2—15 μ die Spektren von *2,3-Epoxy-2,2,4-trimethylpentan, 1,2-Epoxy-p-menthan, (1,2)-(8,9)-Diepoxy-p-menthan, 2,3-Epoxypinan, 1,2-Epoxy-2,2,4-trimethylpentan, Epoxycyclohexan, 4-Vinyl-1,2-epoxycyclohexan, (4,5)-(8,9)-Diepoxytricyclo-(5,2,1)-o-decan, 1,2-Epoxyoctan, 1,2-Epoxydodecan* und *Phenylglycidyläther*. Alle Epoxyde haben ein Absorptionsband bei 7,8—8,1 μ. Zum Nachweis der Zahl der Substituenten am Epoxydring ist die IR-Absorption von 11—13,5 μ heranzuziehen. Trisubstituierte Ringe haben ein Band bei 13—13,3 μ, disubstituierte von 11,8—12,9 μ und Monoderivate von 11,4—12,4 μ. Die Intensität der Banden erlaubt es, quantitative Bestimmungen aus IR-Spektren durchzuführen. Analysenergebnisse sind allerdings nicht angegeben. Die Arbeit enthält in tabellarischer Übersicht die Wellenlängen und Intensitätsabschätzungen der Absorptionsbänder der oben angeführten Verbindungen von 7—15 μ und einen Hinweis über die Bildung von Molekülkomplexen der Oxirane mit Jod.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 544—546 (1958). Food Machinery & Chemical Corp. Buffalo, N. Y. (USA). H. Specker

Zur papierelektrophoretischen Trennung von Cumarinen haben S. Berlingozzi und V. Parrini[1] in Erweiterung früherer Messungen[2] die Rundfilterchromatographie herangezogen, vor allem, da sie in erheblich kürzerer Zeit (1—2 Std) ausgeführt werden kann. Untersucht werden *Cumarin, Methylcumarin, Umbelliferon, Methylumbelliferon, Diphenylumbelliferon, Erniarin, 6,7- und 7,8-Dioxycumarin, 4,7-Dimethoxycumarin, Xantotoxin, Oxypeceudanin, Bergaptol, Bergapten, Imperatorin, Seselin* und *Psoralen*. Die R_f-Werte bei der Chromatographie auf Rundfilter mit Wasser-Eisessig-Butylenglykol-Gemisch (86 : 10 : 6) und bei Aufgabe von 5—10 μg in 0,02%iger alkoholischer Lösung sind weniger unterschiedlich als bei der Chromatographie im Streifen. Wird auf Rundfilter mit Veronalpufferlösung (5,88 g Veronalnatrium, 3,88 g Natriumacetat, 1,38 g Kaliumoxalat und 20 ml 0,1 n Salzsäure im Liter, p_H 8,9) 1—2 Std mit 110 V elektrochromatographiert, so werden nur wenig veränderte Trenneffekte erhalten. Die Auswertung wird in Woodschem Licht vorgenommen.

[1] Sperimentale, Sez. chim. biol. **6**, 59—64 (1956). Univ. Florenz (Italien). — [2] Berlingozzi, S., u. L. Fabbrini: Sperimentale, Sez. chim. biol. **5**, 1 (1954); und Fabbrini, L.: Sperimentale, Sez. chim. biol. **6**, 7 (1955). K. Cruse

Bestimmung von 1,1′-Ferrocen-dicarbonsäure in Gegenwart von Ferrocenmonocarbonsäure mittels Infrarotspektroskopie. Monosubstituierte Ferrocenderivate (Dicyclopentadienyl-eisen) weisen — wie der unsubstituierte Grundkörper — zwei IR-Absorptionsbanden bei 9,02 und 9,98 μ auf, die bei den 1,1′-disubstituierten fehlen. E. F. Wolfarth[1] gibt eine *Arbeitsvorschrift* zur Analyse der 1-Monocarbonsäure des Ferrocens im Gemisch mit der 1,1′-Dicarbonsäure an, die sich dieser unterschiedlichen Absorptionseigenschaften bedient. 0,0111 g der Probe werden mit 1 g KBr vermischt, ein Teil davon (0,3 g) wird in der üblichen Weise zu einer Tablette gepreßt (12 mm ⌀, Druck etwa 16 t/cm²) und die Tablette gewogen. Dann wird die IR-Absorption bei 9,02 und 9,98 μ bestimmt (Doppelstrahl-

Spektrometer Perkin-Elmer, Modell 112, NaCl-Prisma). Aus einer an zahlreichen Eichmischungen gewonnenen Eichkurve wird — nach Korrektur für den Substanzverlust beim Pressen — unmittelbar das Mischungsverhältnis abgelesen. Die Genauigkeit der Methode wird zu $\pm$ 5% angegeben.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 185—186 (1958). Wright-Patterson Air Force Base, Ohio (USA). G. Bergmann

---

IV. Spezielle analytische Methoden

2. Analyse von Materialien der Industrie, des Handels und der Landwirtschaft

Titan, Titanlegierungen. *Zur maßanalytischen Schnellbestimmung von Magnesium in Titan* empfehlen M. J. Miles, W. J. Mesimer und M. Atkin[1] die Titration mit Äthylendiamintetracetat (ÄDTA)-Lösung, nachdem man vorher Titan und andere störende Elemente mittels Ammoniumacetat abgetrennt hat. Bei Anwesenheit größerer Mengen Mangan (Störung des Indicatorumschlages!) muß vor der komplexometrischen Titration noch eine Sulfidfällung eingeschaltet werden. — *Arbeitsweise.* Von Titanschwamm und anderen Metallen löst man 5 g in 80 ml Salzsäure, von Laugen und nichtmetallischen Materialien verwendet man eine etwa 50 mg Magnesium enthaltende Probemenge und füllt in einem 100 ml-Meßkolben mit kationenfreiem Wasser (sämtliches verwendetes Wasser ist auf einem Kationenaustauscher, z. B. Amberlite IRC-50 entionisiert worden) auf. 20 ml der Auffüllung werden mit 80 ml Wasser verdünnt, durch tropfenweise Zugabe von Salpetersäure oxydiert und mit 10 ml Eisessig versetzt. Man stellt mit Ammoniak auf p_H 6 ein, gibt 25 ml Ammoniumacetatpuffer (139 g Ammoniumacetat werden in 1 l Wasser gelöst, die Lösung wird durch Zugabe von 6 ml Essigsäure auf p_H 6 eingestellt) zu und kocht 5 min zur vollständigen Ausfällung von Titan(IV) und Eisen(III). Nach dem Abkühlen füllt man in einem 250 ml-Meßkolben zur Marke auf und filtriert nach 20 min einen geeigneten aliquoten Teil der klar abgesetzten Lösung ab. Man versetzt mit 1 ml Indicatorlösung (0,2 g Eriochromschwarz T und 0,02 g Methylrot in 100 ml Äthanol), Ammoniak bis p_H 10 sowie 25 ml Pufferlösung p_H 10 (1 Teil 1,0 m Ammoniumchloridlösung und 5 Teile 1,0 m Ammoniak) und titriert nach Verdünnen zu etwa 200 ml mit ÄDTA-Lösung (4,0 g ÄDTA, Dinatriumsalz und 0,5 g Natriumhydroxyd in 1000 ml, eingestellt gegen eine Standardmagnesiumlösung) bis zum Umschlag nach Blaugrün. — Bei Gegenwart von mehr als Spuren Mangan dekantiert man von der 250 ml Auffüllung 100 ml ab, die mit 5 ml 5%iger Natriumsulfidlösung versetzt und solange gekocht werden, daß man wieder eine 100 ml-Auffüllung herstellen kann. In einem aliquoten Teil wird dann Magnesium wie oben bestimmt. — Fluorid- und Phosphationen bedingen Mitfällen von Magnesium bei der Acetatfällung, Reduktions- und starke Oxydationsmittel sowie Wein- und Citronensäure beeinträchtigen den Indicatorumschlag. Aus 21 Beleganalysen errechnet sich bei Magnesiumgehalten von 0,02—1% ein mittlerer Fehler von $\pm$ 0,7%.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 361—363 (1958). Titanium Metals Corp., Henderson, Nev. (USA). H. Garschagen

V. A. Fassel und W. A. Gordon[1] behandeln *die emissionsspektrometrische Bestimmung von Sauerstoff in Titan und Titanlegierungen.* Um den Sauerstoff aus dem Metall frei zu machen, entwickeln die Verff. ein Verfahren, bei dem kleine Scheibchen der Proben mit Platinplättchen zu Pillen verpreßt werden, die auf Graphitelektroden im Gleichstromdauerbogen aufgeschmolzen werden. Hierbei

bildet sich eine Schmelzperle aus Ti und Pt, aus der der Sauerstoff allmählich frei wird. Die ganze Elektrodenanordnung befindet sich in einem mit Argon gefüllten Entladungsgefäß, in welchem nun neben den Metallinien auch die Linien des aus der Schmelze ausgetretenen Sauerstoffs und des Argons angeregt werden. Als Analysenlinienpaar wird O 7771 ÅE/Ar 7891 ÅE verwendet. Eine in üblicher Weise mit Testlegierungen aufgestellte Eichkurve verläuft sehr gut auf einer Geraden und ist gut mit Meßpunkten belegt. Sie reicht von 0,03—0,6% Sauerstoff. Für die Analyse von zwei Proben mit 0,13 und 0,19% Sauerstoff betrug der Variationskoeffizient 3,8 bzw. 4,6.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 179—182 (1958). Yowa State Coll. Ames, Iowa (USA).
J. VAN CALKER

D. A. SWANN und D. A. WILLIAMS[1] modifizieren die von E. BOOTH, E. J. BRYANT und A. PARKER[2] beschriebene *Apparatur zur Mikrobestimmung von Sauerstoff, Stickstoff und Wasserstoff in Titan und einigen anderen Metallen* in der Art, daß an Stelle von bisher 24 Verbindungsschliffen nur noch 4 erforderlich sind. Das Prinzip der Apparatur wird durch 2 schematische Abbildungen in der Originalarbeit erläutert. Zeitaufwand beim Zusammensetzen und Reinigen sowie auftretende Undichtigkeiten der Apparatur werden durch die Abänderung wesentlich herabgesetzt.

[1] Analyst **83**, 113—114 (1958). Imperial Chemical Industries Limited Metals Division Kynoch Works, Witton, Birmingham. — [2] Analyst **82**, 50 (1957); vgl. diese Z. **158**, 370 (1957). H. GARSCHAGEN

Über die Bestimmung von Molybdän, Nickel, Mangan, Eisen, Chrom, Zinn, Vanadium und Stickstoff in Titanlegierungen berichten G. NORWITZ und M. CODELL[1] in einer umfassenden Arbeit. Nach Lösen des Materials in verdünnter Schwefelsäure unter Zugabe von Flußsäure und Oxydation mit Wasserstoffperoxydlösung wird eine Stammlösung hergestellt, aus der in aliquoten Teilen die erwähnten 8 Elemente nach bekannten Methoden bestimmt werden können: Molybdän colorimetrisch oder gravimetrisch bzw. volumetrisch nach Fällung als Sulfid, Nickel colorimetrisch oder gravimetrisch mit Diacetyldioxim, Mangan nach der Perjodatmethode colorimetrisch oder durch Titration mit Natriumarsenit, Eisen colorimetrisch mit o-Phenanthrolin oder maßanalytisch mit Kaliumdichromat, Chrom colorimetrisch als Diphenylcarbazidkomplex oder durch ferrometrische Titration, Zinn jodometrisch, Vanadium durch Titration mit Eisen(II) unter Verwendung von Diphenylbenzidin als Redoxindicator und Stickstoff alkalimetrisch nach Destillation als Ammoniak. Bezüglich der genauen Arbeitsvorschriften muß auf das mit 40 Literaturzitaten versehene Original verwiesen werden.

[1] Metallurgia (Manchester) **57**, 261—270 (1958). Pitman-Dunn Labs., Frankford Arsenal, Philadelphia, Pa. (USA). H. GARSCHAGEN

Zur Bestimmung von Mangan in Titan untersucht J. A. CORBETT[1] die Oxydation mit Ammoniumpersulfat und die anschließende Titration mit Natriumarsenit. An Stelle der bei Anwesenheit großer Titanmengen störenden Phosphorsäure kann mit gutem Erfolg Natriumfluorid verwendet werden. Die Mangankonzentration kann bei Gegenwart von Natriumfluorid von 10 auf 25 mg erhöht werden, ohne daß es zur Abscheidung von Mangandioxydhydrat kommt. Da der Endpunkt der Titration von der Mangan- und Titankonzentration abhängig ist, muß die Einstellung der Meßlösung empirisch unter entsprechenden Verhältnissen vorgenommen werden. Die Beleganalysen sind bei Mangangehalten von 2—4% mit Fehlern von 0,02—0,08% behaftet.

[1] Analyst (Lond.) **83**, 53—54 (1958). Commonwealth Scient. and Ind. Res. Organisation, Univ. Melbourne (Australien). H. GARSCHAGEN

Eisen, Stahl. *Die Bestimmungsverfahren der Begleitelemente des Roheisens,* deren Gehalte in der Größenordnung 0,001—0,1% liegen, wurden vom Chemikerausschuß des Vereins Deutscher Eisenhüttenleute überprüft und von T.-K. Willmer[1] zusammengestellt. Von den zahlreichen in Frage kommenden Verfahren werden jeweils die herausgestellt, die sich auf Grund gemeinsamer Untersuchungen in neun Laboratorien als zuverlässigste erwiesen haben und die ohne allzu großen apparativen Aufwand durchgeführt werden können. Es werden teilweise verbesserte Arbeitsvorschriften mitgeteilt für folgende Elemente: Aluminium (photometrisch mit Aluminon), Kobalt (photometrisch mit Nitroso-R-salz), Chrom (photometrisch mit Diphenylcarbazid), Kupfer (photometrisch mit Dithiooxamid), Molybdän (photometrisch mit Kaliumrhodanid und Zinn(II)-chlorid), Nickel (photometrisch mit Diacetyldioxim), Titan (photometrisch mit Chromotropsäure), Vanadium [potentiometrisch mit Eisen(II)], Arsen (gravimetrisch oder maßanalytisch nach vorhergegangener Destillation), Antimon (maßanalytisch nach vorhergegangener Destillation), Zinn (jodometrisch nach vorheriger Abscheidung als Sulfid) und Blei (photometrisch mit Dithizon).

[1] Arch. Eisenhüttenwes. **29**, 159—164 (1958). Chem.-Ausschuß Verein Dtsch. Eisenhüttenleute. Düsseldorf. H. Garschagen

Zur Bestimmung von Spuren Blei und Wismut in Gußeisen entfernt R. C. Rooney[1] das Eisen durch Ausschütteln mit Isobutylacetat in salzsaurer Lösung, extrahiert Blei und Wismut gemeinsam als Diäthylcarbaminatkomplexe aus Ammoniumtartrat-cyanidlösung und bestimmt schließlich beide Elemente nebeneinander durch polarographische Reduktion in saurer, tartrathaltiger Grundlösung. Vor allem für Proben mit Gehalten unter 0,0001% Blei und unter 0,00005% Wismut sind an die verwendeten Reagentien und Gefäße die höchsten Reinheitsforderungen zu stellen. Es sollen ausnahmslos Pyrex-Glasgeräte verwendet werden, die vor Gebrauch 5 min mit 2 n Salpetersäure p. a. ausgekocht und mit destilliertem und entionisiertem Wasser ausgespült werden. Nur für die Polarographierlösungen darf kein entionisiertes Wasser verwendet werden, weil dadurch bei sehr empfindlichen Geräten Störungen auftreten können. — *Reagentien. Isobutylacetat.* 100 ml werden mit 10 ml 2 n Salpetersäure ausgeschüttelt und darin wird polarographisch Blei bestimmt; falls nötig wird das Reagens zur Reinigung mit 2 n Salpetersäure und anschließend mit 5 n Salzsäure ausgeschüttelt. *Natriumtartratlösung.* 200 g neutrales Natriumtartrat werden in 700—800 ml Wasser gelöst und solange mit 50 ml-Portionen einer 0,05%igen Lösung von Dithizon in Chloroform geschüttelt, bis in der Chloroformschicht keine Farbänderung mehr auftritt. Die wäßrige Phase wird mit Chloroform geschüttelt, bis die Extrakte farblos sind, nach Verkochen des Chloroforms wird abgekühlt und auf 1 l verdünnt. *Kaliumcyanidlösung.* 200 g Kaliumcyanid werden in 700—800 ml Wasser gelöst, nach Zusatz von 10 ml 0.1%iger Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung 3mal mit je 50 ml Chloroform ausgeschüttelt und auf 1 l verdünnt; die Lösung ist jeweils frisch anzusetzen. *Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung.* 0,1 g reines Salz werden in 100 ml Wasser gelöst und nach Zusatz von 2—3 Tropfen Ammoniak 2mal mit je 10 ml Chloroform extrahiert; die Lösung ist frisch anzusetzen. — *Bestimmung.* Man löst 5 g Gußeisen in 35 ml Salzsäure (D 1,18) und 10 ml Salpetersäure (D 1,42), dampft eben zur Trockne, nimmt in 20—30 ml Salzsäure gegebenenfalls unter gelindem Erwärmen auf und ergänzt nach dem Abkühlen mit konz. Salzsäure zu 100 ml. Bei Gehalten von 0,0001—0,01% Blei und Wismut genügt eine Einwaage von 1 g und eine besondere Reinigung ist bei Verwendung von reinsten Reagentien nicht erforderlich. Bei Gehalten über 0,01% kann später in 0,1 n Salpetersäure polarographiert und die Endlösung auf 25 ml aufgefüllt werden. Für normale Eisen- und Stahlproben mit weniger als 0,0001% Blei und Wismut sind eine 4 g-Einwaage und besonders

gereinigte Reagentien erforderlich. Reine Eisenproben mit geringen Gehalten an Mangan und anderen Elementen werden unmittelbar nach dem Aufnehmen mit Salzsäure im Scheidetrichter ausgeschüttelt; man reduziert die Tartrat- und Cyanidmenge (siehe unten) auf 5 ml bzw. 1—2 ml und stellt vor der Carbaminatextraktion gerade ammoniakalisch. Die aufgefüllte Lösung wird 3—5 min zentrifugiert. 80 ml (bei 1 g-Einwaage 20 ml) werden im Scheidetrichter mit 150 ml (bei 1 g-Einwaage 50 ml) Isobutylacetat extrahiert. Die wäßrige Phase wird eben zur Trockne gedampft, der Rückstand in 10 Tropfen Salzsäure gelöst, mit 15 ml Wasser auf 80—90° C erhitzt, nach Zugabe von 0,1 g Hydrazindihydrochlorid 3 min bei 80—90° C gehalten, abgekühlt und im Scheidetrichter mit 10 ml Tartratlösung, 30 ml Ammoniak (D 0,880), 10 ml Kaliumcyanidlösung sowie 10 ml Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung versetzt, wobei nach jedem Zusatz umgeschüttelt wird. Die Lösung wird nacheinander mit 15, 10 und 5 ml Chloroform 1 min extrahiert. (Bei Gehalten über 0,01% Blei und Wismut wird zweimal mit je 15 ml und je einmal mit je 10 und 5 ml Chloroform ausgezogen.) Nach Eindampfen der Chloroformextrakte zur Trockne werden organische Reste mit 2,0 ml Salpetersäure (D 1,42) und 2,0 ml Perchlorsäure (D 1,54) zerstört. Der Rückstand wird in 1,0 ml verd. Salpetersäure (1 : 20) gelöst, mit 4,0 ml Natriumtartratlösung versetzt und nach Entlüften mit Stickstoff polarographiert. Die Wismutstufe erscheint bei — 0,45, die Bleistufe bei — 0,72 Volt gegen die Quecksilberanode. — Bei Anwesenheit von Thallium muß das Blei in einer Natriumhydroxyd-Grundlösung gemessen werden, da die Bleistufe in Tartratlösung überlagert wird. Bei Mangangehalten über 1% können Spuren davon mitextrahiert werden; durch Zusatz von 1—2 mg Hydrazindihydrochlorid verschwindet jedoch die beim Polarographieren störende Stufe. — Nach den Beleganalysen beträgt die maximale Abweichung bei Gehalten von 0,00013—0,0073% Blei 0,00001—0,0005%, bei Gehalten von 0,000004—0,00071% Wismut 0,000001—0,00005%.

[1] Analyst **83**, 83—88 (1958). Cast Iron Res. Assoc. Bordesley Hall, Alvechurch, Birmingham (England). H. Garschagen

Zur spektrophotometrischen Schnellbestimmung von Zirkonium in Stahl werden nach S. Wakamatsu[1] störende Legierungselemente durch Äthylendiamintetraacetat (ÄDTA) maskiert und das Zirkonium als Chinalizarinkomplex photometriert. Anwesenheit von Titan bedingt Fehlresultate. — *Arbeitsweise.* 0,1 g Stahl werden in 15 ml Salzsäure (1 : 3) und 3 ml 30%iger Wasserstoffperoxydlösung in der Hitze gelöst und gegebenenfalls filtriert. Man verdünnt mit Wasser auf etwa 45 ml, erhitzt mit 1 g Natriumsulfit zum Sieden und versetzt mit 1 g ÄDTA, 16 ml 50%iger Ammoniumacetatlösung, 20 ml 0,01%iger Chinalizarinlösung sowie 10 ml Äthanol. Die Lösung wird elektrometrisch mit verd. Salzsäure bzw. Ammoniak auf p_H 5 eingestellt, 5 min lang auf 80—90° C erhitzt, in einem 100 ml-Meßkolben zur Marke aufgefüllt und bei 540 mμ photometriert. Der Zirkoniumgehalt wird mit Hilfe einer Eichkurve ermittelt.

[1] Jap. Analyst **7**, 84—88 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Toto Seikō Co., Ltd. H. Garschagen

Zur Bestimmung von Stickstoff und Kohlenstoff in Stahl und Titan empfiehlt M. Tsuchiya[1] die Verbrennungsmethode, wobei der Stickstoff elementar entweicht und in dem Gasgemisch massenspektrometrisch bestimmt wird. Das Verfahren erwies sich zur Bestimmung von Stickstoff in Eisennitrid und Aluminiumnitrid geeignet, während es bei Chromnitrid nicht anwendbar war.

[1] Jap. Analyst **7**, 12—17 (1957) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Tokyo. H. Garschagen

Zur Bestimmung von Phosphor nach der Molybdatmethode, besonders in basischen Schlacken und Stählen werden von D. STOCKDALE[1] ausführliche Untersuchungen angestellt. Bei Anwendung kontrollierter Fällungsbedingungen hat der gelbe Niederschlag die empirische Zusammensetzung $(NH_4)_2H[P(Mo_3O_{10})_4] \cdot H_2O$ und geht beim Waschen mit verd. Ammoniumnitratlösung in die Verbindung $(NH_4)_3[P(Mo_3O_{10})_4]$ über. Es werden die genauen Bedingungen untersucht, um Phosphorsäure quantitativ in der gewünschten Zusammensetzung zur Abscheidung zu bringen und die günstigsten Verhältnisse auf die Analyse von basischen Schlacken und Stahl übertragen. Bei Gegenwart größerer Mengen Sulfat- und Eisenionen werden bei einmaliger Fällung zu hohe Ergebnisse erhalten. Es ist deshalb zweckmäßig, den Niederschlag in Ammoniak zu lösen, das Molybdän als Sulfid abzutrennen und die Phosphorfällung zu wiederholen. Perchlorsäure bedingt einen ähnlichen Effekt, jedoch wird bei Verwendung von Perchlorsäure als Aufschlußmittel durch Phosphorsäureverluste dieser Fehler annähernd kompensiert. Verf. stellt weiterhin Untersuchungen über die acidimetrische Bestimmung des Phosphormolybdatniederschlages, zum Teil bei Gegenwart von Formaldehyd an und beschreibt die Verwendung von Ammoniumparamolybdat als Standard für die Maßanalyse. — *Arbeitsweise für Stähle.* 2 g Stahl werden mit 40 ml Wasser und vorsichtig mit 20 ml Salpetersäure (D 1,42) versetzt und bis zum Entweichen der nitrosen Gase gekocht. Nach Zugabe von 2 ml Kaliumpermanganatlösung (2,5 g/100 ml) und Umrühren kocht man 3 min, löst den Mangandioxydhydratniederschlag durch tropfenweise Zugabe von gesättigtem Schwefeldioxydwasser und erhitzt weiter 2 min zum Sieden. Nach Verdünnen mit Wasser zu 150 ml fällt man bei 60° C unter Rühren mit 100 ml konz. Ammoniummolybdatlösung von gleicher Temperatur und läßt unter gelegentlichem Schütteln 1 Std stehen. Der abfiltrierte Niederschlag wird 4mal mit 10 ml 2%iger Ammoniumnitratlösung (Becherglas vorher damit ausspülen) gewaschen, anschließend auf dem Filter mit 5 ml Ammoniak (1 + 2) in das Fällungsgefäß zurückgelöst und das Filter 6mal mit je 10 ml fast kochendem Wasser nachgewaschen. Nach Verdünnen des Filtrates zu 100 ml wird Schwefelwasserstoff eingeleitet, bis sich die Farbe der Lösung nicht mehr ändert, mit 50 ml Salzsäure (1 + 9) angesäuert und bis fast zum Sieden erhitzt. Nach Abfiltrieren des Niederschlages wird dieser 7mal mit insgesamt 60 ml kochend heißer 1%iger Salzsäure gewaschen, das Filtrat auf etwa 30 ml eingeengt, etwa ausgefallenes Molybdänsulfid durch tropfenweise Zugabe von Salpetersäure gelöst und Ammoniak (1 + 2) bis zum Umschlag von Methylorange hinzugegeben. Bei einem Volumen von 50 ml fällt man in der oben beschriebenen Weise mit 50 ml verd. Ammoniummolybdatlösung, saugt durch einen Glasfiltertiegel ab, wäscht 5mal mit insgesamt 40 ml 2%iger Ammoniumnitratlösung aus und trocknet bei 280° C. — An einer großen Anzahl von Beleganalysen wird gezeigt, daß nach der Britischen Standardmethode und bei der direkten Fällung etwas zu hohe Phosphorwerte gefunden werden. — *Konz. Ammoniummolybdatreagens.* 250 g Ammoniumnitrat werden in 250 ml Wasser gelöst, mit 250 ml Salpetersäure (D 1,42) sowie einer Lösung von 40 g Ammoniumparamolybdat in 150 ml Wasser versetzt und gut durchmischt. Nach Verdünnen zu 1000 ml gibt man 1 mg gelöstes Kaliumdihydrogenphosphat zu und läßt 6 Std unter gelegentlichem Umschütteln bei 60° C stehen. Die über Nacht erkaltete Lösung ist nach dem Filtrieren gebrauchsfertig. *Verdünntes Ammoniummolybdatreagens.* 20 g Ammoniummolybdat, 200 g Ammoniumnitrat und 250 ml Salpetersäure (D 1,42) in 1000 ml. Die Lösung bleibt länger als 3 Monate klar.

[1] Analyst **83**, 24—36 (1958). Univ. Cambridge (England). H. GARSCHAGEN

Zur Schnellbestimmung von Mangan in Ferromangan und wolframhaltigen Werkzeugstählen empfehlen C. O. INGAMELLS und W. S. BRADSHAW[1] die Oxydation mit

Perchlorsäure in stark phosphorsaurer Lösung und anschließende ferrometrische Titration des gebildeten Mangan(III) unter Verwendung von Diphenylamin als Redoxindicator. Da Vanadium mittitriert wird, muß es gesondert bestimmt und bei der Berechnung berücksichtigt werden. Chrom bleibt unter den angegebenen Bedingungen dreiwertig und stört nicht. — *Arbeitsweise für Ferromangan.* 0,3000 g Probe (kleiner als 100 mesh) werden unter gelindem Erwärmen in einer Mischung von 5 ml Wasser, 1 ml konz. Salpetersäure und 6 ml 72%iger Perchlorsäure gelöst. Wenn bis auf Kohlenstoff alles in Lösung gegangen ist, erhitzt man nach Zugabe von 50 ml 85%iger Phosphorsäure bis zur Beendigung der Reaktion und wäscht, sobald die Lösung dunkelrot gefärbt ist, mit 15 ml Phosphorsäure die Glaswand ab, ohne umzuschütteln. Anschließend wird weiter erhitzt, bis die Perchlorsäure größtenteils abgeraucht, jedoch noch die gesamte Substanz in Lösung ist. Bei Anwesenheit von Chrom muß allerdings solange erhitzt werden, bis das zunächst entstandene Chrom(VI) wieder zu Chrom(III) reduziert worden ist. Die Lösung wird anschließend auf etwa 60° C abgekühlt (bei vollständigem Abkühlen wird sie glasartig fest und schwer löslich), mit 10—15 ml kaltem Wasser durchgemischt und nach dem Abkühlen mit weiteren 150 ml Wasser versetzt. Man kühlt sofort unter fließendem Wasser ab und titriert mit 0,1 n Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung (mit 5% Schwefelsäure) bis zum Verschwinden der rosa Mangan(III)-farbe und nach Zugabe von 3—5 Tropfen Diphenylaminlösung (1%ig in konz. Schwefelsäure) weiter bis zur Entfärbung des Indicators. Zur Einstellung der Eisen(II)-lösung dient eine Ferromanganprobe bekannten Gehaltes, die genau wie die Probe behandelt wird. — Von *wolfram-* und *chromhaltigen Stählen* löst man 2 g unter gelindem Erwärmen in 15 ml Perchlorsäure sowie 50 ml Phosphorsäure und behandelt anschließend wie oben weiter. — 5 Beleganalysen stimmen bei Mangangehalten von etwa 78% mit der Wismutatmethode auf 0,2% überein.

[1] Chemist-Analyst **47**, 11—12 (1958). Univ. Minneapolis, Minn. (USA) und Burlington Steel Co., Hamilton, Ont. (Kanada). H. Garschagen

Eine Untersuchung über die Absorption von einigen Asphaltmaterialien im ultravioletten und ultraroten Spektralbereich hat H. E. Schweyer angestellt[1]. — *Ausführung.* 0,1 g Asphalt werden in einem Gemisch von 15 Vol.% 1-Butanol und 85 Vol.% Isooctan gelöst und auf 50 ml aufgefüllt. Von dieser Stammlösung werden geeignete Arbeitslösungen durch entsprechende Verdünnungen mit dem Lösungsmittelgemisch hergestellt. Die Messungen werden in 10 mm Schichtdicke gegen das Gemisch von 400—240 nm in 5 nm-Abständen durchgeführt. Dann wird mit 2 nm-Schritten weiter gemessen, bis keine Ablesung mehr möglich ist. Daneben werden Messungen von Fraktionen durchgeführt, die nach der Traxler-Schweyer-Methode[2] erhalten worden sind. — Die im Original wiedergegebenen Absorptionskurven zeigen bei 220—240 nm hohe Werte, die von konjugierten acyclischen Dienen herrühren. Absorption bei 260 nm zeigen mono- und polycyclische Aromaten oder konjugierte acyclische Triene an. Da die Unterscheidungsmerkmale noch nicht ausreichen, sind Asphaltproben im Tetrachlorkohlenstoff gelöst und entsprechende Verdünnungen in verschiedenen Schichtdicken zwischen 2 und 8 μ ausgemessen worden. Die einzelnen Absorptionsbanden werden für die weitere Klassifikation ausgewertet und die Absorptionswerte von verschiedenen Asphaltmaterialien im UV und UR in mehreren Tabellen (siehe Original) zusammengestellt. Mit Hilfe dieser Technik kann die schwierige Asphaltanalyse sehr erleichtert werden.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 205—209 (1958). Univ. Gainesville, Fla. (USA). — [2] Traxler, R. N., u. H. E. Schweyer: Oil Gas J. **52**, Nr. 17, 133; Nr. 19, 158; Nr. 21, 143; Nr. 23, 167; Nr. 24, 157; Nr. 25, 151; Nr. 26, 133 (1953). H. Pohl

Zur Bestimmung organischer Disulfide in Erdöl haben J. H. KARCHMER und M. T. WALKER[1] die von J. S. BALL[2] angegebene Methode modifiziert, die auf der Reduktion der Disulfide zu den entsprechenden Mercaptanen und deren maßanalytischer Bestimmung beruht. — *Ausführung.* Die Petroleumprobe mit etwa 0,5—20 mg Disulfidschwefel wird in den Rückflußkolben *a* der Reduktionsapparatur (Abb. 1) eingebracht und mit Isooctan auf etwa 50 ml verdünnt. Man gibt 25 g metallisches Zink (20 mesh) und 50 ml Eisessig zu (wenn keine tertiären

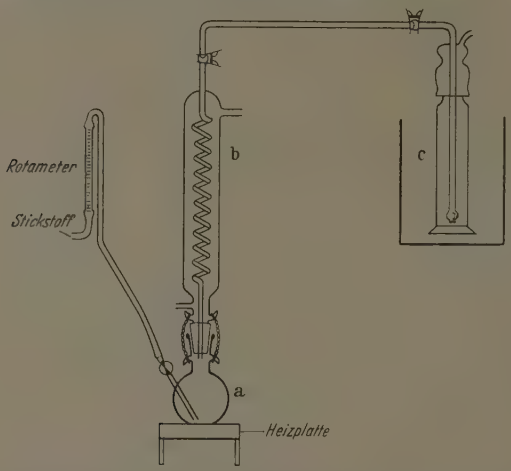

Abb. 1. Reduktionsapparatur zur Bestimmung von Disulfiden nach KARCHMER u. WALKER

Disulfide zugegen sind, genügen 10 g Zink), schließt den Kühler *b* und die Gaswaschflasche *c* an. *c* ist zur Absorption leichtflüchtiger Mercaptane mit 50 ml 20%iger Natronlauge beschickt und steht in einem Eisbad. Man erhitzt das Reaktionsgemisch 3 Std unter Rückfluß, wobei man von 1,5 Std angefangen einen gleichmäßigen Stickstoffstrom (10 l/Std) durch die Apparatur leitet. Anschließend kühlt man den Rückflußkolben 15 min in Eiswasser (dabei wird der Stickstoffstrom aufrechterhalten). In dem Inhalt der Vorlage wird der Mercaptangehalt nach Zugabe von 1 ml konz. Ammoniak durch potentiometrische Titration mit 0,01 n wäßriger Silbernitratlösung bestimmt. Anschließend spült man den Kühler mit 10 ml Titrationsflüssigkeit (eine 0,1 n Lösung von Natriumacetat in einem Gemisch aus gleichen Teilen Methanol und Benzol), entleert den Rückflußkolben in einen Becher, wäscht 2 mal mit je 20 ml Titrationsflüssigkeit nach und titriert die erhaltene Lösung potentiometrisch mit 0,01 n isopropanolischer Silbernitratlösung. 1 ml 0,01 n Maßlösung entspricht 0,3206 mg Disulfidschwefel. Bei der Berechnung ist der ursprüngliche Mercaptangehalt der Probe zu berücksichtigen, der in einer getrennten Einwaage nach Lösen der Probe in Titrationsflüssigkeit durch potentiometrische Titration mit 0,01 n isopropanolischer Silbernitratlösung ermittelt wird. Bei hohen Gehalten sind die Mercaptane nach J. S. BALL[2] oder T. E. EARLE[3] zu entfernen oder zu maskieren. Nach den mitgeteilten Analysenzahlen lassen sich mit dem beschriebenen Verfahren befriedigende Ergebnisse erzielen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 85—90 (1958). Humble Oil & Refining Co., Baytown, Tex. (USA). — [2] Bur. Mines, Rept. Invest. RI 3591 (1941). — [3] Analyt. Chemistry **25**, 769 (1953); vgl. diese Z. **144**, 68 (1955). K. MACHNER

Zur Bestimmung der Schwefelverbindungen in Petroleumnaphtha (Siedepunkt < 288° C) hat J. H. KARCHMER[1] das bei der Humble Oil & Refining Co. maßgebende Arbeitsschema angegeben, das in einer zweckmäßigen Kombination der Polarographie, Potentiometrie, Spektralphotometrie und Massenspektrometrie sowie rein chemischer Methoden besteht. Die wesentlichen Teile der gesamten Analyse sind: Gesamtschwefelbestimmung (nephelometrisch oder gravimetrisch) die polarographische Analyse zur Orientierung über die anwesenden Anteile und zur Bestimmung des Elementarschwefels, die Schwefelwasserstoffbestimmung mit Cadmiumsulfat, die potentiometrische Analyse auf Mercaptan und Hydrogensulfide, die Bestimmungen von Disulfid und Sulfid und die Analyse auf thiophenartig gebundenen Schwefel, gegebenenfalls über eine chromatographische Trennung. Für sämtliche Teilanalysen sind die Zusammensetzungen der zu verwendenden Lösungen und die Arbeitsvorschriften im Telegrammstil gegeben. Die potentiometrische Titration erfolgt an einer Silberelektrode, die in der Titrierlösung nach Zusatz von 0,1% Natriumsulfid sulfidiert wird, während 10 ml 0,1 n Silbernitratlösung tropfenweise in 10—15 min unter Rühren zufließen. Sulfidüberschuß wird durch Eintauchen in 0,01 n Silbernitratlösung (für einige Minuten) entfernt. Die Kalomelelektrode ist durch die Agar-Kaliumnitrat-Brücke verbunden. Für die Polarographie wird eine Tropfzeit von 2—5 sec empfohlen. Nähere Einzelangaben müssen dem Original entnommen werden.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 80—85 (1958). Humble Oil & Refining Co., Baytown, Tex. (USA). K. CRUSE

Den Nachweis polycyclischer Aromaten in Kohlenwasserstoff (KW)-Wachsen beschreiben W. PRESTING und S. JÄNICKE[1]. Hierzu werden die Gemische von KW-Wachsen auf dem Objektträger nach Erstarren bzw. Abkühlen auf Raumtemperatur mikroskopisch im polarisierten und im Luminescenzlicht untersucht. Nach Beobachtung der Strukturen zwischen gekreuzten Nicols werden bei unveränderter Lage des Objekts Polarisator und Analysator herausgeschaltet und das Objekt mit dem durch Uvett-Filter 1,5 bzw. 3,5 und durch eine 2% Kupfersulfatlösung (Küvette) gefilterten Licht einer Bogenlampe unter Benutzung eines Okularsperrfilters GG 9, Projektiv 2,5 : 1 und 1,3 : 1 (Zeiss, Jena) beobachtet, wodurch die Strukturen der polycyclischen Aromaten aufleuchten. — Im Original sind zahlreiche mikroskopische Aufnahmen enthalten.

[1] Fette u. Seifen **60**, 12—16 (1958). Inst. org. Grundstoffchemie, Leipzig. A. MÜHRDEL

Zur Bestimmung der n-Kohlenwasserstoffe in Paraffinen verwenden G. L. STAROBINEC und T. A. BOLŠOVA[1] die Trennung über die *Harnstoffeinschlußverbindungen*. Zur genauen Untersuchung der kinetischen Grundlagen des Verfahrens bestimmen Verff. die Adsorptionsisothermen enger n-Kohlenwasserstoff-Fraktionen durch Zugabe variierender Mengen Harnstoff (bis zu 12 g je Gramm Paraffin) zur Lösung der Kohlenwasserstoffe in Benzol, Toluol oder Tetrachlorkohlenstoff. Die nach Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes vorhandene Konzentration an Kohlenwasserstoffen in der Lösung wird durch Abdampfen eines aliquoten Anteils bestimmt. Die Versuchsergebnisse lassen sich durch die Langmuirsche Adsorptionsgleichung beschreiben. Die Koeffizienten und die maximale Adsorption werden größer mit steigendem mittlerem Molekulargewicht der eingesetzten Paraffinfraktion. Die Adsorptionsisothermen der reinen n-Kohlenwasserstoffe gehen bei größeren Harnstoffkonzentrationen in horizontale gerade Linien über, während die Isothermen von Handelsparaffinen in einer ansteigenden Geraden auslaufen. Verff. erklären dieses unterschiedliche Verhalten durch das gleichzeitige Auftreten zweier Adsorptionsprozesse: Der Adsorption von n-Kohlenwasserstoffen und der von

iso-Kohlenwasserstoffen mit schwach verzweigten Ketten. Der Gehalt an n-Kohlenwasserstoffen ergibt sich durch Extrapolation des geraden Teiles der Adsorptionsisotherme auf die Harnstoffkonzentration Null. Die so erhaltenen Werte sind — innerhalb von 1,5% — unabhängig von der Art der verwendeten Lösungsmittel und liegen meist etwas unter den nach der Methode von HESSLER und MEINHARDT[2] erhaltenen Werten.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 235—241 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Weißruss. Univ. Minsk (UdSSR). — [2] HESSLER, W., u. G. MEINHARDT: Fette und Seifen **55**, 855 (1953); vgl. diese Z. **144**, 69 (1955). H. WUNDERLICH

Identifizierung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen. E. TERRES[1] berichtet in Ergänzung zur bekannten n-d-M-Gruppenanalyse über andere Wege zur Identifizierung der Hauptbestandteile von Mineralölkohlenwasserstoffen auf Grund der Brechungsindices, der Dichten und der Molekulargewichte. Aus eigenen Arbeiten und aus der Literatur wurden Werte für etwa 500 Kohlenwasserstoffe folgender Gruppen zusammengetragen und ausgewertet: n- und i-Paraffine, Cyclopentane, Cyclohexane, n- und Poly-Alkylbenzole, Naphthalin- und Hydronaphthalinderivate, Indenderivate, Anthracen- und Phenanthrenderivate und ihre Hydroverbindungen. Beim Auftragen der Brechungsindices als Funktion der Dichten ergaben sich für alle Verbindungsklassen gerade Linien. Als charakteristische Kennzahl für die einzelnen Kohlenwasserstoffklassen erwies sich der Quotient aus Brechungsindex n_D^{20} und Dichte d_4^{20}. Beim Auftragen dieses Quotienten als Funktion des Molekulargewichtes entstehen für die einzelnen Klassen charakteristische Kurven oder Felder. Wird der Quotient als Funktion von 1/C (Kehrwert der C-Zahl der entsprechenden Verbindung) aufgetragen, erhält man für die einzelnen Substanzgruppen gerade Linien verschiedener Neigung. Die Geraden schneiden sich in einem Punkt, dessen Koordinaten $1/C = 0$ und $n_D^{20}/d_4^{20} = 1{,}73$ sind. (In 28 Zahlentafeln und 6 Bildern sind die einzelnen Werte zusammengestellt.)

[1] Brennstoff-Chemie **39**, 97—110 (1958). D. JENTZSCH

Die quantitative Bestimmung von Bleitetraäthyl in Kraftstoffen beschleunigt und vereinfacht K.-H. BRAUN[1] durch chelatometrische Titration des Bleis nach Zerstörung seiner organischen Verbindung mit elementarem Chlor. — *Arbeitsweise.* In einem Scheidetrichter versetzt man 100 ml Kraftstoff mit 4 g Kaliumchlorat und innerhalb 10 min portionsweise mit insgesamt 20 ml konz. Salzsäure. Nach erfolgter Umsetzung fügt man 20 ml Wasser hinzu, schüttelt, läßt die untere (salzsaure) Schicht ab und wäscht den Kraftstoff mit 20 ml Wasser nach. Die vereinigten wäßrig-salzsauren Extrakte kocht man bis zur beginnenden Salzabscheidung ein, verdünnt mit 300 ml Wasser, neutralisiert mit Ammoniak, fügt 10 ml Pufferlösung (54 g Ammoniumchlorid + 350 ml konz. Ammoniak im Liter), 25 ml 0,01 m ÄDTA-Lösung und 0,3 g Indicatorpulver (1 g Eriochromschwarz T + 100 g Natriumchlorid) hinzu und titriert mit 0,01 m-Zinklösung den ÄDTA-Überschuß bis zum Umschlag von Blau nach Rotviolett zurück. Bei der Berechnung ist ein Blindwert von etwa 0,4 ml zu berücksichtigen. 1 ml 0,01 m-ÄDTA-Lösung entspricht 0,002 Vol-% Bleitetraäthyl (oder 32,4 mg/l). Die Fehlergrenze beträgt 0,0008 Vol-%.

[1] Chem. Techn. **10**, 159 (1958). VEB Sachsenring, Zwickau. F. NEUMANN

Zur Bestimmung geringster Mengen Halogen in Petroleumprodukten (Benzol, Toluol und Naphthas) verwenden L. J. CALI, J. W. LOVELAND und D. G. PARTIKIAN[1] die Verbrennung der Probe im Beckman-Brenner, Absorption des entstandenen anorganischen Chlorids in Carbonatlösung und anschließend die amperometrische Titration mit Silbernitrat. — *Vorschrift.* In der genau beschriebenen

Verbrennungs- und Absorptionsapparatur wird die nach dem Halogengehalt bemessene Probemenge am Zerstäuber in der Wasserstoff-Sauerstoff-Flamme verbrannt (50 g in 30 min) und das Halogenid in 50 ml 0,1 n Natriumcarbonatlösung absorbiert. Vom Absorptionsgefäß wird die Lösung in die Titrierzelle (Abb. 1) übergeführt. Nach Zugabe von 1 ml Salpetersäure (1 : 1) und 1 ml 0,1%iger Gelatinelösung wird die Quecksilbertropfelektrode eingetaucht, mit Stickstoff entlüftet und bei —0,2 V gegen die Bodenelektrode amperometriert. Dazu wird zunächst nach Anlegen der Spannung bei durchperlendem Stickstoff eine möglichst konstante Stromstärke abgewartet und der Stickstoff durch Anheben des Einleitrohrs nur über die Lösung geleitet, die Tropfgeschwindigkeit auf 3 oder 4 sec eingestellt und endlich mit Zugaben von 0,04 ml einer 0,01 n Silbernitratlösung amperometriert. Nach jeder Zugabe wird 30 sec mit Stickstoff durchmischt. Die bei der Verbrennung mitströmende Beiluft muß über Natronkalk gereinigt sein, auch soll mit einer Blindprobe (Verbrennung ohne Probe über die gleiche Zeit) verglichen werden. 1—10 ppm Chlorid als *Äthylenchlorid* oder *Tetrachlorkohlenstoff* in Benzol werden mit einem Fehler von 0,6 ppm analysiert, die Analysen sind im Mittel auf 0,3 ppm reproduzierbar. Die amperometrische Titration ist der colorimetrischen Bestimmung nach J. Iwasaki, S. Utsumi und T. Ozawa[2] überlegen.

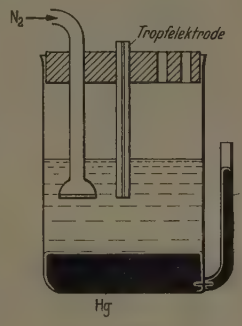

Abb. 1. Titrierzelle nach Cali u. Mitarb.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 74—77 (1958). Sun Oil Co., Marcus Hook, Pa. (USA). — [2] Bull. chem. Soc. Japan **25**, 226 (1952); vgl. diese Z. **141**, 291 (1954). K. Cruse

Zur colorimetrischen Bestimmung von Pyrrol, Indol und ihren Homologen in Petroleumdestillaten empfehlen M. A. Muhs und F. T. Weiss[1] die Farbreaktion mit *p-Dimethylaminobenzaldehyd*. Pyrrol- und Indolverbindungen bilden in saurer Lösung rotviolette Farbverbindungen mit Absorptionsmaxima zwischen 530 und 570 mμ. Die störenden Olefine werden vorher mit Hilfe der Säulenchromatographie abgetrennt. — *Arbeitsweise*. Je nach dem zu erwartenden Gehalt an pyrrolischem Stickstoff werden 0,01 g (für 500—5000 ppm), 0,1 g (50—500 ppm), 1 g (5—50 ppm) oder 10 g (0,5—5,0 ppm) der Petroleumprobe auf eine Säule gebracht (Länge 20 cm, innerer Durchmesser 2 cm), die bis zu einer Höhe von 15 cm mit Florisil (synthetisches Magnesiumsilicat, 60—200 mesh) bepackt ist. Man eluiert zunächst mit 50 ml pyrrol- und olefinfreiem n-Heptan (2 l n-Heptan werden nacheinander 5 mal mit je 100 ml konz. Schwefelsäure, dann 4 mal mit je 100 ml Wasser extrahiert, anschließend 1 Std über einem Gemisch aus wasserfreiem Magnesiumsulfat und Kaliumcarbonat getrocknet und filtriert), danach mit 75 ml Benzol und verdrängt schließlich das Benzol mit Isopropanol aus der Säule. Das Benzoleluat wird in 3 Fraktionen zu je 25 ml aufgefangen. Man verdünnt die einzelnen Fraktionen in Meßkolben mit Benzol auf 50 ml und entnimmt für die nachfolgende Bestimmung je 25 ml der ersten beiden Fraktionen (die 3. Fraktion wird nur analysiert, wenn in der 2. Fraktion mehr als 25% des in der ersten Fraktion vorhandenen Stickstoffs gefunden werden). Blindversuche werden mit den restlichen 25 ml der verdünnten Benzolfraktionen entsprechend durchgeführt. Die Benzollösungen werden mit 5 ml einer Lösung von 1,0 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 100 ml 85%iger Phosphorsäure versetzt (die Blindlösungen versetzt man mit 5 ml 85%iger Phosphorsäure) und 10 min sehr kräftig geschüttelt. Anschließend gibt man 50 ml Eisessig zu,

schüttelt erneut 5 min, läßt die Farblösung in einen 100 ml-Meßkolben ab, wäscht mit Eisessig nach, füllt zur Marke auf und mißt die Extinktion der erhaltenen Lösung innerhalb 10 min bei 530, 540, 545, 550, 560 und 570 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. Vergleichslösung ist dest. Wasser. Zur Berechnung gilt dann folgende Gleichung: Pyrrolischer Stickstoff (ppm) $= 1{,}4 \cdot 10^6(A)/0{,}5 \cdot$ Einwaage $\cdot\, a$. Dabei ist A die jeweils bei einer der genannten Wellenlängen unter Berücksichtigung des entsprechenden Blindwertes gefundene Gesamtextinktion, a sind die für die jeweiligen Wellenlängen einzusetzenden molaren Absorptionen. Die Werte von a sind für die Wellenlängen in obiger Reihenfolge: 49500, 54000, 57000, 57100, 50000 und 38000. Der Durchschnitt der für die einzelnen Wellenlängen erhaltenen Werte gilt als der zu bestimmende Endwert. Die Genauigkeit der Methode ist mit $\pm$ 4% angegeben.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 259—266 (1958). Shell Development Co., Emeryville, Calif. (USA). K. Machner

Zur Unterscheidung von gebrauchtem und frischem Schmieröl benutzen A. Ungar und A. M. Trozzolo[1] die statistische Auswertung von 14 IR-Banden von 7—15 μ. Ausgewertet werden nach dem Grundlinienverfahren die Banden bei 7,66, 8,68, 9,33, 9,68, 10,36, 10,60, 10,70, 10,91, 11,23, 11,42, 11,77, 12,28, 13,87 und 14,35 μ. Aus der Gleichung $Q = 100 \cdot \sum_{i=1}^{14} \frac{x_i - r_i}{r_i}$, wobei x_i die Extinktionen des unbekannten und r_i die mittleren bekannten Extinktionen gebrauchter Öle bedeuten, läßt sich aus der Größe des Q-Wertes die Herkunft der Schmieröle bestimmen. Mit geringen Ausnahmen liegt der Q-Wert bei frischen Ölen über 294 (Werte aus 73 Proben), bei bereits benutzten Schmierölen, die aus Sammelstellen zur Verfügung standen, ist der nach obiger Gleichung errechnete Q-Wert bei 85% der Proben kleiner als 294 (Werte aus 54 Proben). Die Verf. benutzten ein Perkin-Elmer IR-Spektrometer Modell 12 C und NaCl-Küvetten ($d = 0{,}101$ mm).

[1] Analyt. Chemistry **30**, 187—191 (1958). Illinois Inst. Technol. u. Univ. of Chicago, Chicago, Ill. (USA). H. Specker

Eine schnelle chromatographische Analyse für seifenverdickte Schmierfette beschreiben G. W. Powers jr. und F. J. Piehl[1]. Die Nachteile der ASTM-Methode D 128 werden weitgehend vermieden. Die Methode eignet sich für Silicon-, Ester- und Petroleumöle und geht damit über den Anwendungsbereich der ASTM-Methode hinaus. Lediglich Asphaltöle bereiten Schwierigkeiten. Der durchschnittliche Fehler für die Rückgewinnung des Ölanteiles beträgt 0,2 Gew.-% der des Säureanteiles 0,15 Gew.-%. Die Methode dürfte für die überwiegende Zahl seifenverdickter Fette mit einer Genauigkeit von 0,5 Gew.-% (Ölanteil) bzw. von 0,3 Gew.% (Säureanteil) durchführbar sein. — *Herstellung der Säule.* Das als Säule dienende mit Abflußhahn versehene Glasrohr (inn. ⌀ 22 mm, Länge 31 cm) ist am oberen Ende zu einem 250 ml-Reservoir verbreitert, die oberen 6 cm des geraden Säulenteiles sind heizbar. Nach Einbringen eines Baumwollpfropfens gießt man 15 ml Chloroform in das Rohr, darauf eine Aufschlämmung von 15 $\pm$ 1 g Kieselgel (60 –200 mesh), in etwa 50 ml Chloroform. Nach dem Absitzen folgen 15 $\pm$ 1 g Kieselgel, die zuvor mit 10 ml 10%iger Äthanolaminlösung in Chloroform vermischt worden sind und weitere 50 ml Chloroform. — *Verfahren.* Es wird so viel Probe genommen, daß man 1—2 g Fettsäure und nicht mehr als 30 g Öl erhält. Man versetzt mit 50 ml Chloroform (alkoholfrei) und als Indicator 2 Tropfen 1%ige Buttergelblösung in Chloroform, rührt kräftig, gibt 10 vol-%ige Äthansulfonsäurelösung in Chloroform zu, bis die rote Farbe 5 min bestehen bleibt und dann tropfenweise 10%ige chloroformige Triäthylaminlösung bis zum gelben Endpunkt. (Ein auf-

tretender Niederschlag kann aus Hydroxystearinsäure [löst sich beim Erwärmen] oder anorganischen Salzen bestehen.) Die so vorbereitete Lösung wird auf die Säule gegeben und mit mehreren 10 ml-Portionen Chloroform eingewaschen. Falls Hydroxystearinsäure anwesend ist, wird die Säule mit der Heizspirale erwärmt. Das Lösungsmittel soll nicht sieden. Nach dem Eindringen in das Kieselgel wird mit 200 ml Chloroform eluiert. Das Eluat, das den Ölanteil enthält, wird auf einem Dampfbad vom Lösungsmittel befreit und der Ölanteil gewogen. Die Fettsäuren werden anschließend mit 250 ml 5% Essigsäure enthaltendem Chloroform mit der gleichen Fließgeschwindigkeit von etwa 5 ml/min eluiert. Nach dem Abdampfen werden sie gewogen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 28—31 (1958). Standard Oil Co., Whiting, Ind. (USA).
D. Jentzsch

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Die Bestimmung von Saponin an Hand von Dosis-Wirkungskurven der Saponinhämolyse beschreibt P. Finholt[1]. Er führt Hämolyseversuche an Saponin-Standard- und Testlösungen durch. Nach einer bestimmten Zeit wird der Hämolysegrad aller Proben spektrophotometrisch bestimmt. Es werden für beide Lösungen Dosis-Wirkungskurven ausgearbeitet und aus dem Verhältnis derjenigen Menge von Test- und Standardlösung, die eine 50%ige Hämolyse bewirken, wird die Stärke der Testlösung errechnet. Zur spektrophotometrischen Bestimmung überführt Verf. das unbeständige Oxyhämoglobin durch Zusatz einer Mischung von Cyanid und Cyanoferrat(III) in das beständige Cyanmethämoglobin[2]. Die von Verf. vorgeschlagene Arbeitsweise hat außerdem den Vorteil, daß schon nach kurzen Hämolysezeiten (1/2 Std) gute Resultate erhalten werden können. Die Standardabweichung liegt bei 2%. — *Ausführung.* Die Blutkörperchen-Suspension (1—5 ml Blut/100 ml Suspension) wird mit der Saponinlösung so vorsichtig wie möglich vermischt und etwa 1 Std bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann werden die Proben zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird mit einer Pipette abgesaugt und mit 2 Tropfen Cyanid-Hexacyanoferrat(III)-Reagens[2] versetzt. Nach 10 min wird die Extinktion bei 545 mμ bestimmt.

[1] Pharmac. Weekbl. **93**, 105—113 (1958). Pharmaz. Inst., Univ. Oslo (Norwegen). — [2] Finholt, P.: Norges Apotekerforen. Tidsskr. **61**, 384, 453 (1953); **62**, 23 (1954).
A. Mührdel

Über die mikrochemische Identifizierung von Antimalariamitteln berichtet E. G. C. Clarke[1]. Die Untersuchungen beziehen sich auf 14 Mittel, die durchwegs N-haltige Substanzen von Alkaloidtypus, meist Aminochinolinderivate, sind. Alle untersuchten Stoffe können mit Empfindlichkeiten von 0,1—0,5 μg durch *Mikrokristallreaktionen* mit Pikrinsäure, Styphninsäure, Pikrolonsäure, Kaliumcadmiumjodid, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumtrijodid, Goldcyanid, Goldbromid, Platinchlorid, Ammoniumrhodanid, Kaliumchromat nachgewiesen werden, zum Teil auch durch *Farbreaktionen* mit Formaldehyd-Schwefelsäure (Marquis-Reagens), Ammoniumvanadat, Ammoniummolybdat, Selendioxyd und mit diazotiertem p-Nitranilin (Reaktion von A. Sánchez[2]). Die Ausführung der Reaktionen ist schon früher eingehend beschrieben worden[3]. Die Prüfungsergebnisse sind in der Originalarbeit in 2 Tabellen zusammengestellt.

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **10**, 194—196 (1958). Royal Veterinary Coll., London (England). — [2] Ann. pharm. franç. **6**, 495 (1948); **7**, 183 (1948); vgl. auch diese Z. **138**, 397 (1953). — [3] Clarke, E. G. C., u. M. Williams: J. Pharmacy Pharmacol. **7**, 255 (1955); Clarke, E. G. C.: J. Pharmacy Pharmacol. **9**, 187 (1957); vgl. diese Z. **151**, 68 (1956); **159**, 375 (1957/58).
B. Rossmann

Über die Perchlorsäure-Titration von Basen, die SH- oder S-Gruppen enthalten, berichten I. Bayer und E. Posgay[1]. In wäßrigen Systemen bilden Thiole und verwandte schwefelorganische Verbindungen mit Metallsalzen, darunter mit Quecksilberionen Mercaptide: $2RSH + (CH_3COO)_2Hg \rightarrow (RS)_2Hg + 2CH_3COOH$. Diese Gleichung gilt auch in essigsaurem Milieu und kann zur Beseitigung von SH- und S-Gruppen angewendet werden. So ist es möglich, nach Zusatz von Quecksilber(II)-acetat den basischen Anteil des Moleküls mit Perchlorsäure zu titrieren. — *Arbeitsweise.* Zur Titration von *Thiocarbamid* werden 60—80 mg der Substanz unter gelindem Erwärmen in 10 ml Eisessig gelöst und nach dem Abkühlen der Lösung mit 0,1 n Perchlorsäure in wasserfreiem Eisessig unter Verwendung von Gentianaviolett als Indicator titriert. Während der Titration werden 5—6 ml 3%ige essigsaure Quecksilber(II)-acetatlösung 1 ml-weise zugesetzt [ein großer Überschuß an Quecksilber(II)-acetat stört durch Niederschlagsbildung]. Die Titration von *Thiosinamin* wird in derselben Weise durchgeführt, nur beträgt die eingewogene Substanzmenge 100 mg und die Menge des als Lösungsmittel verwendeten Eisessigs 20 ml. — Auch andere schwefelorganische Verbindungen zeigen dieselbe Reaktion[2].

[1] Naturwissenschaften **45**, 185 (1958). Ungar. Pharmakopöekommission, Budapest (Ungarn). — [2] Über die Bestimmung von Methinazol siehe I. Bayer u. E. Posgay: Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **96**, 561 (1957); vgl. diese Z. **162**, 300 (1958). K. Machner

Dihydroquercetin (3, 3′, 4′, 5,7-Pentahydroxyflavanon), welches als Antioxydans für Fette und Öle verwendet wird, bestimmen G. M. Barton und J. A. F. Gardner[1] colorimetrisch im *Holz der Douglastanne* und der westlichen *Lärche*, indem sie jene Verbindung im Wasserextrakt des Holzes mit Zink und Essigsäure reduzieren und die danach mit Salzsäure entwickelte Purpurrotfärbung messen. — *Arbeitsweise.* Man erhitzt 2 g Holzmehl (40-Maschensieb) nacheinander mit 50 und 25 ml Wasser je 1 Std und noch 2mal mit 15 ml Wasser je 0,5 Std im siedenden Wasserbad (Luftkühler) und sammelt die Extrakte bis zum Gesamtvolumen von 100 ml (Meßkolben). Hiervon pipettiert man 1 ml in ein Reagensglas ab, worin sich bereits 0,50 g nicht zu reines Zinkpulver (30—40-Maschensieb) befindet, fügt 2 ml Aceton und 1 ml Eisessig dazu, schüttelt sofort durch und taucht 40 min in ein 65° ± 0,1° C warmes Wasserbad. Danach dekantiert man in einen 25 ml-Meßkolben ab, wäscht das Zink 2mal mit insgesamt 10 ml Aceton nach, fügt 1 ml konz. Salzsäure hinzu und füllt mit Aceton bis zur Marke auf. Nach frühestens 5 und spätestens 15 min mißt man die Absorption der Lösung bei 525 mμ. Unter denselben Bedingungen (vor allem mit demselben Zink, da von der Zinkqualität die Farbstärke wesentlich abhängt) stellt man sich eine Eichkurve mit wäßrigen Lösungen von kristallisiertem Dihydroquercetin im Bereich von 0,05—0,5 mg/ml her. — Die Reproduzierbarkeit des ganzen Verfahrens (einschließlich der Holzextraktion, wobei die größten Streuungen entstehen) beträgt 2%. — Verwandte Verbindungen stören praktisch nicht, weil sie entweder in den beiden Hölzern nicht vorkommen oder mit Wasser nicht extrahierbar sind.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 279—281 (1958). Univ. Vancouver (British Columbia). F. Neumann

Zum Nachweis einiger Phenyläthylaminderivate auf Papierchromatogrammen verwendet G. Weidner[1] *Isatinreagens.* Von zahlreichen überprüften Substanzen reagieren folgende Verbindungen mit Isatin unter Farbbildung: *L-1-(3,4-Hydroxyphenyl)-2-aminopropanolhydrochlorid (Corbasil)* = braunviolett; *1-(3-Hydroxyphenyl)-2-aminoäthanolhydrochlorid (Novadral)* = kirschrot; *1-Phenyl-2-aminoäthanolsulfat (Apoephedrin)* = rot; *L-Noradrenalin-D-bitartrat* = braun; *Adrenalonhydrochlorid* = rotviolett; *Tyramin* = graublau; *β-Phenyläthylamin* = graublau.

Die Nachweisgrenze der jeweiligen Substanzen liegt bei 1 μg (Fleckendurchmesser 0,5 cm). Keine Färbung mit Isatin geben unter anderem D,L-Ephedrinhydrochlorid, L-Adrenalinhydrochlorid, Pentredrin, Effortil, Pholedrin, Pervitin, Vasculat, Dilatol, Adrianol, Suprifen, Elastonon, Pedrolon. — *Arbeitsweise.* 1—20 μg der zu untersuchenden Phenyläthylaminderivate werden auf Filtrierpapierstreifen (Schl. & Sch. 2043 bm, 30 cm lang, 3 cm breit) aufgetragen, die Streifen werden etwa 12 Std klimatisiert, anschließend mit n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:2) entwickelt und bei 80° C getrocknet. Danach werden die Chromatogramme durch frisch bereitetes Isatinreagens gezogen (die Herstellung der Reagenslösung erfolgt in der von J. Barrollier, J. Heilman und E. Watzke[2] zum Nachweis von Aminosäuren angegebenen Modifikation), zwischen Filtrierpapier leicht abgepreßt, etwa 30 min bei 80° C getrocknet, durch Auswaschen mit Wasser vom Reagensüberschuß befreit und in noch feuchtem Zustand ausgewertet.

[1] Naturwissenschaften **45**, 185—186 (1958). Humboldt-Univ. Berlin. — [2] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **304**, 21 (1956); vergl. diese Z. **157**, 146 (1957).

K. Machner

Über die polarometrische (amperometrische) Bestimmung einiger Antihistaminica und Spasmolytica berichten J. Kráčmar, J. Blažek und Z. Stejskal[1]. Es werden sowohl in Reinsubstanz als auch in Tabletten-, Dragee-, Tropfen- und Kapselform, Injektionslösungen und Elixieren folgende Arzneimittel untersucht: *Benadryl* (Syn. Amidryl, Difenhydramin, Dimedrol = Benzhydryl-2-dimethylaminoäthyläther-hydrochlorid), *Pyribenzamin* (Syn. Tripelennamin = N-Benzyl-N'-(2-dimethylaminoäthyl)-aminopyridin-hydrochlorid), *Ambodryl* (= Hydrochlorid des p-Brombenzhydryl-2-dimethylaminoäthyläthers), *Antihistamin „Spofa"* (= Benzhydryl-piperidinäthyläther-hydrochlorid), *Atarax* (= p-Chlorbenzhydryl-(p-hydroxyäthoxyäthyl)-diäthylendiamindihydrochlorid), *Longifène* (= p-Chlorbenzhydryl-p-tertiobutylbenzyl-diäthylendiamindihydrochlorid), *Postafène* (= p-Chlorbenzhydryl-(p-m-methylbenzyl)-diäthylendiamindichlorid), *Antrenyl* (= Phenyl-cyclohexylhydroxyessigsäure-diäthylaminoäthylester-methylbromid), *Artan* (Syn. Parkopan = Phenylcyclohexyl-piperidin-propanolhydrochlorid), *Spalisal* (= 9-(β-Piperidin-äthyl)- xanthenmethylbromid), *Banthin* (= Xanthen-9-carbonsäure-β-diäthylaminoäthylester-methylbromid) und *Pro-Banthin* (= Xanthen-9-carbonsäure-β-diisopropylaminoäthylester-methylbromid). Es wird der Schmelzpunkt ermittelt; die Gehaltsbestimmung wird polarometrisch nach einer bereits beschriebenen *Vorschrift* durchgeführt[2].

[1] Pharmazie **12**, 803—809 (1957). Staatl. Anstalt Arzneimittelkontrolle, Prag (ČSR). — [2] Kráčmar, J., u. Z. Stejskal: Československ. Farmac. **6**, 139 (1957); vgl. diese Z. **161**, 228 (1958).

B. Rossmann

Spektrophotometrische Titrationsmethoden mittels salpetriger Säure für die Hydrochloride von Procain, Propoxycain und Tetracain gibt E. L. Pratt[1] bekannt. — *Apparatur.* Man ersetzt bei einem Beckman-Spektrophotometer Modell B die Küvettenhalterung durch eine Titrationskammer aus Aluminiumblech (Abb. 1), die in zwei gegenüberliegenden Seitenwänden je eine Lichteintritts (*B*)- und Lichtaustritts (*C*)-Öffnung von etwa 4 cm Durchmesser, in der Decke eine Öffnung (*A*) von etwa 1 cm Durchmesser zur Einführung einer Bürette und am Boden eine Vorrichtung zum Betrieb eines elektromagnetischen Rührers (*D*) trägt. Auf den Boden der Kammer (*E*) stellt man das Becherglas mit der salzsauren Lösung der zu bestimmenden Substanz. — *Ausführung.* Man bringt die in einem 250 ml-Becherglas in 150 ml 6n Salzsäure gelöste Substanz in die Titrationskammer, durchstrahlt den Inhalt des Becherglases mit UV-Licht von 385 mμ Wellenlänge und stellt das Gerät auf den Nullpunkt ein. Dann beginnt man unter Rühren aus einer Bürette gleiche

Volumen 0,1 n Natriumnitritlösung einzutropfen und mißt nach jeder Zugabe die Lichtabsorption der Lösung, die durch die Bildung von Diazoniumverbindungen bei Gegenwart von Procain oder Propoxycain bzw. eines Nitrosoderivates, wenn Tetracain vorliegt, verursacht wird (UV-Absorptionskurven im Original). Trägt man die zugesetzten Mengen Nitritlösung und die korrespondierenden Extinktionen der Lösung in ein Koordinatensystem ein, so liegen diese auf einer Geraden. Sobald die zu titrierende Substanz restlos umgesetzt ist und freie salpetrige Säure in der Lösung auftritt, erhält die UV-Absorptionskurve einen Knick, der dem Äquivalenzpunkt der vorgelegten Substanz entspricht (Diagramme und Tabellen im Original).

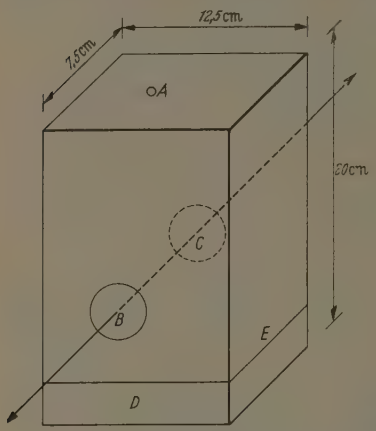

Abb. 1. Titrationskammer nach PRATT

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **46**, 724—728 (1957). Winthrop Labs., Rensselaer, N.Y. (USA). K. SÖLLNER

Bei der Reinheitsprüfung von 2,3-Dimercapto-1-propanol (Dimercaprol), British Anti-Lewisite, BAL) fanden R. I. ELLIN, A. A. KONDRITZER und D. H. ROSENBLATT[1] als Verunreinigung das toxisch wirkende 1,2,3-*Trimercaptopropan* (TMP). Dieses läßt sich nach folgenden Verfahren in BAL nachweisen: 1. BAL muß in seinem 35fachen Volumen an Wasser klar löslich sein. Gegebenenfalls auftretende Trübungen bestehen aus TMP. 2. Man löst 100 mg BAL in 30 ml Methanol und titriert mit 0,1 Jodlösung bis zum Auftreten einer Gelbfärbung. Der aus dem Jodverbrauch berechnete Thiol-Schwefelgehalt soll zwischen 51 und 52 % betragen (TMP: 68,35 %). 3. 5 ml einer Lösung von 124 mg BAL in 100 ml N-N-Dimethylformamid (DMF) mischt man durch kräftiges Schütteln mit 5 ml einer Lösung von 0,417 g neutralem Bleiacetat in 2 ml Eisessig, die mit reinem Pyridin auf 100 ml aufgefüllt wird, und bestimmt im Coleman Junior-Spektrophotometer in einer 9 mm-Rundküvette die Trübung bei 425 mμ gegenüber einer Blindprobe aus DMF und Bleireagens. Die Lichtabsorption soll nicht mehr als 0,200 betragen (TMP nicht ablesbar, da Trübung zu stark). 4. Die Refraktion von BAL soll etwa 1,570 betragen, gegenüber $d_{TMP} = 1{,}6078$. 5. Man entwickelt auf Whatman-Papier Nr. 1 je 1 μl BAL aufsteigend mit der organischen Phase einer Mischung gleicher Volumina Benzol-Heptan-Methanol-Wasser und besprüht das getrocknete Chromatogramm mit einer Lösung von 1 g Kaliumjodid und 2 ml 10 %iger Platinchloridlösung in 98 ml Wasser. BAL wird als gelber Flecken bei $R_f = 0{,}65$ sichtbar, das ebenfalls gelb gefärbte TMP zeigt $R_f = 0{,}92$.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **47**, 12—14 (1958). Army Chem. Center, Maryland (USA). K. SÖLLNER

Die Trennung von Diphenylhydantoin und Phenobarbital gelingt nach J. L. LACH, K. BHANSALI und S. M. BLAUG[1] mittels Chromatographie über eine Celite-535-Säule, die mit 0,15 m Boratpuffer auf p_H 9,2 eingestellt wird. Die zu untersuchende Probe wird in einem kleinen Becherglas mit 3 ml 0,3 n Salzsäure und 3 g Celite 535 gemischt und mit 5 ml Chloroform auf die Säule gebracht. Mit 2 mal

5 ml Chloroform wird der Rest quantitativ übergespült. Zur Elution von Diphenylhydantoin werden 100 ml Chloroform benutzt. Die Absorption des Eluats wird bei 266 mμ gemessen. Zur Bestimmung von Phenobarbital wird anschließend mit 100 ml einer Mischung von n-Butanol und Chloroform (10 : 90, v/v) eluiert und bei der gleichen Wellenlänge die Absorption des Eluats gemessen. An Vergleichsmischungen und untersuchten Kapseln wird die Brauchbarkeit der Methode erwiesen. Die Abweichungen liegen bei $\pm$ 2%.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **47**, 48—49 (1958). College Pharmac., Univ. Iowa City (USA). B. Rossmann

Über die colorimetrische Bestimmung von Betain (I) bzw. Piperazin (II) in Gegenwart von Hexamethylentetramin (HT) sowie von Strychnal (Sulfat des Äthylbetains der Strychninsäure, III) neben Vitamin B_1 als Reineckaten berichtet Frl. Masse[1]. — *Arbeitsvorschrift. I.* Man destilliert in saurem Medium mit Wasserdampf, wodurch HT in Formaldehyd übergeführt wird, der im Destillat mittels Kaliumjodomercurat bestimmt werden kann. Den I-haltigen Destillationsrückstand verdünnt man so, daß in 10 ml noch 5—8 mg I-hydrochlorid vorhanden sind, säuert 10 ml dieser Lösung auf p_H 1 an, versetzt sie dann mit 10 ml gesättigter Reineckesalz-Lösung und läßt 30 min lang in Eiswasser stehen. Dann saugt man den Niederschlag durch eine G4-Sinternutsche ab, wäscht 2mal kurz mit je 2 ml kaltem Wasser, löst die Fällung in 10 ml Aceton, füllt diese Lösung auf 15 ml auf und vergleicht die bei 525 mμ ermittelte Extinktion dieser Lösung mit denen von auf gleiche Weise behandelten Lösungen mit bekanntem I-Gehalt. — *II.* Man verfährt zunächst wie bei I, engt dann die zurückgebliebene II-Lösung vorsichtig soweit ein, daß in 15 ml etwa 1 mg II vorhanden ist, fällt durch Zusatz von 5 ml gesättigter Reineckesalz-Lösung und vergleicht auch hier die Extinktion der acetonischen Lösung mit denen von Standardlösungen von II. — *III.* Man gibt zu einer Lösung von 3 mg III und 15 mg Vitamin B_1 in 3 ml Wasser 10 ml Wasser, 4 Tropfen Natronlauge und 4 ml gesättigte Reineckesalz-Lösung, stellt 30 min lang in Eis, löst den abgesaugten und gewaschenen Niederschlag in 10 ml Aceton und verfährt wie beschrieben. Nach dem Ansäuern des Filtrates der III-Reineckatfällung kristallisiert das Reineckat des Vitamins B_1 aus, das auf analoge Weise bestimmt werden kann.

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **33**, 80—84 (1958). Lab. Nat. Contrôle Médicaments, Paris (Frankreich). K. Söllner

Chloramphenicol. T. Aihara, H. Machida und Y. Yoneda[1] veröffentlichen eine *colorimetrische Methode zur Bestimmung des Chloramphenicols*, indem sie dessen Aminosäuregruppe in Hydroxamsäure mittels Alkali und Hydroxylaminhydrochlorid überführen. Mit Eisenchlorid wird dann ein Komplexsalz gebildet, dessen Färbung quantitativ gemessen werden kann. Die Methode ist auf Lebensmittel anwendbar, die durch lange Lagerung gelitten haben könnten. Die Ergebnisse stimmen mit den biologischen Bestimmungen überein.

Nach T. Aihara und K. Sato[2] kann *Chloramphenicol von seinem Zersetzungsprodukt mittels Papierelektrophorese getrennt* und dann durch das UV-Absorptionsspektrum bestimmt werden. Die Ergebnisse der Trennung von sauren oder alkalischen Hydrolysaten von Chloramphenicol und seinem Lichtzersetzungsprodukt stimmen mit den Werten der mikrobiologischen Versuche überein.

[1] J. pharmac. Soc. Japan. **77**, 1318—1321 (1957) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.-fass. ref.) Shinagawa Plant, Sankyo Co., Ltd. (Japan). — [2] J. pharmac. Soc. Japan **77**, 1322—1323 (1957) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) B. Rossmann

Sulfone mit blockierter aromatischer Aminogruppe bestimmen J. Blažek und Z. Stejskal[1] nach Abspaltung der blockierenden Radikale durch Titration mit Nitritlösung[2]. — *Ausführung.* Etwa 500 mg Wirkstoff werden mit 100 ml 12,5%iger Salzsäure 30 min unter dem Rückflußkühler gekocht. Nach dem Abkühlen überführt man in einen 250 ml-Meßkolben und füllt mit 25%iger Salzsäure zur Marke auf. 50 ml dieser Lösung werden mit 25 ml 37%iger Salzsäure versetzt und mit 0,1 n $NaNO_2$-Lösung potentiometrisch titriert. Als Elektroden dienen ein Platinblech und ein Graphitstab, die direkt mit dem Galvanometer verbunden sind. 1 ml der 0,1 n Natriumnitritlösung entspricht 12,41 mg Diaminodiphenylsulfon (Diaphenylsulfon, Roussel, Paris), 16,62 mg Diacetylamino-4,4′-diphenylsulfon (Rodilone, Specia, Paris), 16,408 mg des Natriumsalzes von 4-Carboxymethylamino-4-aminodiphenylsulfon. (Sulfon, Cilag, Schaffhausen) und 15,31 mg 4-Carboxymethylamino-4-aminodiphenylsulfon. — Im Falle des Diaphenylsulfons fällt natürlich die Abspaltung ab.

[1] Českoslov. Farmac. **7**, 23—25 (1958) [Tschechisch]. (Mit russ., engl. u. dtsch. Zus.fass.) Staatsanst. f. Arzneimittelkontrolle Prag. — [2] Blažek, J., u. L. Šafařík: Českoslov. Farmac. **6**, 524 (1957); vgl. diese Z. **163**, 294 (1958). Z. Stejskal

Über die Titration der Sulfonamide mit Perchlorsäure in wasserfreier Lösung berichtet J. Meulenhoff[1]. Als Maßlösung dient eine 0,1 n Perchlorsäurelösung in Eisessig, die gegen Kaliumhydrogenphthalat eingestellt und mit dieser gegebenenfalls zurücktitriert wird. Als Indicator wird eine 1%ige benzolische Lösung von α-Naphtholbenzein verwendet (Farbwechsel von Gelblichbraun im alkalischen nach Grün im sauren Gebiet). Titrationsmedium ist ein Lösungsmittelgemisch aus Eisessig und Benzol oder Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff, in dem die Sulfonamide als die entsprechenden Perchlorate quantitativ ausgeschieden werden. Sulfanilamid und Sulfacetamid kann man auch in wenigen Millilitern Acetonitril titrieren. — *Arbeitsweise. Succinylsulfathiazol.* Die Probe wird in Eisessig suspendiert (je mMol 10 ml) und nach Zugabe überschüssiger Perchlorsäurelösung unter Erhitzen gelöst (da sich das Perchlorat bereits ausscheiden kann, bevor das Sulfonamid vollständig gelöst ist, muß beim Erhitzen kräftig geschüttelt werden). Man läßt abkühlen, versetzt mit einigen Tropfen Indicatorlösung und gibt Benzol zu (das 5fache des zum Lösen und Titrieren verwendeten Eisessigs). Nach etwa 30 min wird die überschüssige Perchlorsäure unter kräftigem Schütteln zurücktitriert. — *Sulfacetamid* und *Sulfanilamid.* Man löst die Probe in Eisessig (je mMol 20 ml), gibt einige Tropfen Indicatorlösung zu, versetzt je mMol mit 40 ml Benzol oder Tetrachlorkohlenstoff und titriert mit 0,1 n Perchlorsäurelösung, wobei sich die Perchlorate ausscheiden. Bei der Sulfanilamidbestimmung darf beim Titrieren in Acetonitril das Benzol erst nach Zugabe der Perchlorsäure hinzugefügt werden, da sich sonst das Sulfanilamid wieder abscheidet. — *Sulfadiazin* und *Sulfamethylthiadiazol.* Man suspendiert die Probe in Eisessig (je mMol 5 ml Eisessig), tropft den Indicator ein, versetzt je mMol mit 30 ml Chloroform, titriert unter kräftigem Schütteln mit 0,1 n Perchlorsäurelösung bis zum Farbumschlag des Indicators und gibt dann noch 0,5 ml Perchlorsäure im Überschuß zu, die nach etwa 30 min zurücktitriert werden. — *Sulfadimidin.* Man verwendet zum Lösen der Probe je mÄquiv. 10 ml Eisessig, gibt einen geringen Überschuß Perchlorsäure zu, tropft den Indicator ein, versetzt mit Benzol (das 2,5—3fache des zum Lösen und Titrieren verwendeten Eisessigs) und titriert nach $^1/_2$ Std zurück. Statt Benzol kann auch Chloroform (das 1,5fache der Eisessigmenge) verwendet werden. — *Sulfaguanidin.* Die Probe wird in Eisessig suspendiert (3—5 ml je mÄquiv.), mit einem geringen Überschuß Perchlorsäure versetzt und unter Erwärmen gelöst. Man läßt abkühlen, tropft Indicatorlösung zu und versetzt mit Benzol (das 4fache der Eisessigmenge),

wobei sich das Diperchlorat ausscheidet. Nach $^1/_2$ Std wird die überschüssige Perchlorsäure zurückgemessen. — *Sulfamerazin.* Man verwendet zum Lösen der Probe je mÄquiv. 10 ml Eisessig, gibt dann einen geringen Überschuß Perchlorsäure zu, tropft den Indicator ein und versetzt je mÄquiv. mit je 50 ml Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff. Nach $^1/_2$ Std wird zurücktitriert. — *Sulfapyridin.* Die Probe wird in Eisessig suspendiert (15 ml je mÄquiv.), mit einem geringen Überschuß Perchlorsäure versetzt und unter Erwärmen gelöst. Man kühlt ab, gibt Indicatorlösung und Benzol (das 2fache der Eisessigmenge) zu und titriert den Perchlorsäureüberschuß nach $^1/_2$ Std zurück. — *Sulfathiazol.* Man löst die Probe in Eisessig (20 ml je mMol), gibt etwas weniger als die zur Umsetzung theoretisch erforderliche Perchlorsäuremenge zu, tropft den Indicator ein, versetzt mit 50 ml Chloroform je mMol und beendet die Titration nach etwa 30 min. — 1 ml 0,1 n Perchlorsäure entspricht: 37,34 mg Succinylsulfathiazol, 21,42 mg Sulfacetamid, 17,22 mg Sulfanilamid, 25,03 mg Sulfadiazin, 27,03 mg Sulfamethylthiadiazol, 13,92 mg Sulfadimidin, 11,62 mg Sulfaguanidin, 13,21 mg Sulfamerazin, 12,57 mg Sulfapyridin bzw. 25,53 mg Sulfathiazol. — Auch andere Verbindungen, z. B. *p-Aminobenzoesäure, Anthranilsäure* und *p-Aminobenzoesäureäthylester*, die wie die Sulfonamide als Abkömmlinge des Anilins zu betrachten sind, können nach der beschriebenen Methode unter Ausscheidung der entsprechenden Perchlorate scharf titriert werden.

[1] Pharmac. Weekbl. **93**, 262—267 (1958). N. V. Nederlandsche Combinatie Chem. Ind., Amsterdam (Holland). K. Machner

Trasentinhydrochlorid (Chlorhydrat des Diphenylessigsäure-diäthylaminoäthanolesters) in wäßrigen Lösungen kann man nach A. J. Taraszka und A. D. Marcus[1] nach vorhergegangener chromatographischer Trennung durch nichtwäßrige Titration bestimmen. Durch Hydrolyse gebildetes β-Diäthylaminoäthanol wird auf der Säule zurückgehalten. — *Arbeitsweise.* Man stellt eine wäßrige Lösung (= 5 ml) von Trasentin (30—50 mg/ml) mit Acetatpuffer auf p_H 4,8 ein, gibt die Lösung auf trockene Kieselsäure (soviel g wie ml Lösung) auf und bereitet mit 20 ml Tetrachlorkohlenstoff eine Anschwemmung. Diese wird auf eine Chromatographiersäule mit Kieselsäure (20 g + 20 ml 0,5 m Acetatpufferlösung) quantitativ aufgebracht. Man wäscht mit 10 ml CCl_4 nach, gibt noch eine Aufschwemmung von 1 g Kieselsäure, 1 ml Acetatpufferlösung und 5 ml Tetrachlorkohlenstoff auf die Säule und eluiert mit 5 ml-Anteilen Chloroform in einen 100 ml-Meßkolben. Die Durchlaufgeschwindigkeit soll 2 ml in 3 min nicht überschreiten. Von den 100 ml Eluat versetzt man 10 ml mit 5 Tropfen 0,1%iger α-Naphtholbenzeinlösung in Eisessig und titriert mit 0,01 n Perchlorsäure in Eisessig. Durch Blindversuch muß die Basizität des Indicators berücksichtigt werden. 1 ml 0,01 n Perchlorsäure entspricht 3,479 mg Trasentinhydrochlorid. Die Genauigkeit der Bestimmung beträgt $\pm$ 1%. Der zurückbleibende Anteil von Diphenylessigsäure stört die Bestimmung nicht.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit., **47**, 99—101 (1958). Univ. Newark, N.J. (USA). B. Rossmann

8-Hydroxychinolin-5-sulfonsäure, die zur Herstellung pharmazeutischer Präparate (in der ČSR zu Febrosolvin und Cholesol) verwendet wird, ist nach V. Velich[1] rasch und mit $\pm$ 0,2% Genauigkeit jodometrisch bestimmbar. Die Sulfonsäure addiert nämlich in alkalischer Lösung leicht je Molekül 1 Atom Jod, wobei sich *7-Jod-8-hydroxychinolin-5-sulfonsäure* bildet. Den Jodüberschuß titriert man mit Thiosulfat zurück. Die bromatometrische Methode, die zur Bestimmung von Oxin und Oxinaten von Schwermetallen nach R. Berg[2] benutzt werden kann,

liefert in diesem Falle schwankende Ergebnisse. Auch die direkte alkalimetrische Titration versagt, weil der Indicator unscharf umschlägt. — *Arbeitsvorschrift.* Man löst 2,2—2,5 g Substanz im 250 ml-Meßkolben in 100 ml 10%iger Natronlauge und 50 ml Wasser und füllt mit Wasser zur Marke auf. Hiervon versetzt man 50 ml mit 50 ml 0,1 n Jodlösung, läßt im Dunkeln 5 min stehen, versetzt dann mit 25 ml 25%iger Schwefelsäure oder 30 ml 11%iger Salzsäure sowie 0,5 g Kaliumjodid und titriert mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkelösung zurück. 1 ml 0,1 n Jodlösung entspricht 0,01126 g 8-Hydroxychinolin-5-sulfonsäure. Tabletten und Zäpfchen werden zuerst zerkleinert, mit 3%iger Natronlauge behandelt, Ungelöstes wird abfiltriert und das vorhandene Amidopyrin mit Chloroform ausgeschüttelt. Mit der wäßrigen Lösung wird wie beschrieben verfahren.

[1] Chem. Listy **52**, 346—348 (1958) [Tschechisch]. Staatsanst. z. Arzneimittelkontrolle, Prag (ČSR).— [2] Pharmaz. Ztg. **71**, 1542 (1926); vgl. diese Z. **71**, 26 (1927).

H. Freytag

Reinheitsprüfung und Gehaltsbestimmung von Piperidinomethylcyclohexanon [2-(N-Piperidyl)-methylcyclohexanon-chlorhydrat] (I). I. Gyenes[1] hat die zur Identifizierung der Verbindung wichtigen Schmelzpunkte der Eutektica mit Phenacetin und mit Benzanilid, sowie den Schmelzpunkt des I-Pikrats bestimmt. Eine schwach saure Lösung von I bildet mit Phosphorwolframsäure, Silicowolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Tetraphenylbornatrium, Pikrinsäure und Reineckesalz Niederschläge, aber nicht mit Flaviansäure, Pikrolonsäure oder Nitroindandion. Infolge der anwesenden Carbonylgruppe gibt I in ungefähr 65%ig Pyridin enthaltender wäßrigen Lösung mit m-Dinitrobenzol nach Erwärmen auf 70—75° C, Abkühlen und Zugabe von Natronlauge eine violette Farbreaktion. Diese ist zwar nicht spezifisch, aber bei gleichzeitiger Titration des Basengehaltes des I-Pikrates mit 0,01 n Überchlorsäure in einem Medium von Eisessig-Chlorbenzol-Essigsäureanhydrid entscheidend. — *Die quantitative Bestimmung* von I kann in verschiedener Weise ausgeführt werden. — 1. Im Lösungsmittelgemisch von wasserfreier Essigsäure mit 3% Quecksilberacetat, in Eisessig gelöst, wird in Gegenwart von Kristallviolett mit 0,05 n Überchlorsäure in Eisessig bis zum Farbumschlag nach Blau titriert. — 2. Sollte dieses Verfahren infolge Gegenwart von acylierbarem Amin kleineren Molgewichtes einen 100% weit überschreitenden Gehalt ergeben, wird der Lösung Essigsäureanhydrid zugegeben und die Titration nach 80 min langem Stehen bei 25° C wiederholt. Für den Maßlösungsverbrauch für die Acyliermischung muß eine Korrektur angebracht werden. — 3. Zur Mikrobestimmung wird ein entsprechender Anteil der wäßrigen Lösung von I mit Natronlauge alkalisiert, die freie Base wird dann durch dreimaliges Ausschütteln mit säure- und phosgenfreiem Chloroform in die organische Phase ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden nach Trocknen mit Natriumsulfat im 50 ml-Meßkolben aufgefüllt und davon wird ein Anteil von 5—10 ml in Gegenwart von Dimethylgelb mit 0,005 n p-Toluolsulfosäurelösung in Chloroform auf Nelkenrot titriert. — 4. Eine photometrische Bestimmungsmethode gründet sich auf die oben erwähnte Farbreaktion mit m-Dinitrobenzol. Nach Feststellung der optimalen Pyridin- und Laugenkonzentration und der Beständigkeit des farbigen Komplexes empfiehlt Verf. folgende Arbeitsweise: 1 ml der 50—500 μg I enthaltenden Lösung in 66 vol-%igem Pyridin wird in dünnwandiger Eprouvette mit 1 ml m-Dinitrobenzolreagens [0,2 g gereinigtes m-Dinitrobenzol wird in 20 ml Pyridin-Wassergemisch (2:1) gelöst und mit 10 ml Wasser verdünnt] vermischt, 20 min im Thermostat auf 70 $\pm$ 1° C luftdicht verschlossen erwärmt, dann abgekühlt, mit 1 ml 1 n Natronlauge versetzt und 5—6 min später in einer 10 ml-Küvette im Pulfrich-Photometer mit dem Filter S 57 photometriert, Der I-Gehalt wird einer Eichkurve entnommen. — 5. Zur Bestimmung einer allenfalls vorhandenen Piperidinverunreinigung ist die Farbreaktion

mit 1,2-naphthochinon-4-sulfosaurem Natrium gut brauchbar. Mit Hilfe dieser Reaktion können 20 μg Piperidinhydrochlorid in 10 mg I photometrisch bestimmt werden.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 10—16 (1958) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Köbányai Gyógyszerárugyár, Budapest. J. Plank

Nemural Hoechst [Verbindung von 1 Mol. 4-Hydroxy-3-acetylaminophenylarsonsäure mit 1 Mol. Arecolin (Methylester der N-Methyltetrahydropyridin-β-carbonsäure)] kann nach L. Šafařík[1] mit Perchlorsäurelösung in Eisessiglösung titriert werden. — *Ausführung.* Etwa 50 mg Nemural werden mit einer minimalen Wassermenge versetzt, leicht erwärmt und dann nach Zusatz von 15 ml Acetanhydrid unter dem Rückflußkühler 5 min vorsichtig gekocht. Nach dem Abkühlen werden 10 ml Eisessig zugegeben und mit 0,05n Perchlorsäurelösung (Eisessig als Lösungsmittel) wird entweder visuell gegen Kristallviolet als Indicator oder potentiometrisch titriert. Zur Untersuchung von Tabletten wägt man eine etwa 150 mg Nemural entsprechende Menge der fein pulverisierten Probe ab, löst in 2 ml Wasser unter Erwärmen und verfährt weiter wie oben mit dem Unterschied, daß man 20 ml Acetanhydrid und 15 ml Eisessig zusetzt. 1 ml 0,05n Perchlorsäure entspricht 0,00776 g Arecolinbase.

[1] Československ. Farmac. **7**, 16—17 (1958) [Tschechisch]. (Mit russ., engl. u. dtsch. Zus.fass.) Staatsanst. f. Arzneimittelkontrolle Prag. Z. Stejskal

Urombral läßt sich nach L. Fey[1] polarographisch bestimmen, da Jodmethansulfonsäure eine Reduktionsstufe liefert. Ihr Halbstufenpotential wird von —0,92 V in saurer Lösung bis nach —1,05 V in 1 n Natronlauge verschoben. Die Stufenhöhe ist in 1 n Natronlauge mit 0,02% Gelatine sogar über den weiten Konzentrationsbereich 10^{-4} bis $5 \cdot 10^{-2}$ m der Konzentration linear proportional.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **7**, 69—76 (1956) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Lab. industriei chimico-farmaceutice, Cluj (Rumänien). K. Cruse

Das 1-(4-Hydroxyphenyl)-1-hydroxy-2-n-butylamino-äthansulfat (Vasculat) wird von J. Blažek[1] bromometrisch bestimmt, wobei 1 Molekül des Vasculats 8 Bromatome bindet. — *Ausführung.* Man löst 25—50 mg Vasculat in 10 ml Wasser, gibt 25 ml 0,1n Kaliumbromatlösung, 1 ml 25%iger Salzsäure und 1 g KBr zu, verschließt rasch, läßt 10 min im Dunkeln stehen, setzt dann 1 g KJ (gelöst in 1 ml Wasser und 9 ml Äthanol) zu und titriert nach 2 min mit 0,1n Natriumthiosulfatlösung unter Verwendung von Stärke als Indicator. 1 ml 0,1n $KBrO_3$-Lösung entspricht 6,458 mg Vasculat ($C_{12}H_{19}O_2N_2 \cdot H_2SO_4$). Der Verf. macht darauf aufmerksam, daß in der Zeit, als diese Arbeit gedruckt wurde, von A. Awe und H. Stohlmann[2] ein ähnliches Verfahren empfohlen worden ist.

[1] Československ. Farmac. **7**, 25—26 (1958) [Tschechisch]. (Mit russ., engl. u. dtsch. Zus.fass.) Staatsanst. f. Arzneimittelkontrolle Prag. — [2] Pharm. Zentralhalle Deutschland **96**, 371 (1957); vgl. diese Z. **162**, 212 (1958). Z. Stejskal

Oxytetracyclin, Tetracyclin. Im Anschluß an frühere Mitteilungen über die colorimetrische Bestimmung von *Tetracyclinen* unter Verwendung von *Thorium(IV)-salzlösung* als Farbreagens[1] empfehlen T. Sakaguchi, K. Taguchi und A. Suzuki[2] zur *Bestimmung von Oxytetracyclin* die bereits für die Chlorverbindung angegebene Methode. Oxytetracyclin reagiert mit Thorium(IV)-salzlösungen in schwach saurer Lösung (p_H 3,6—4,4) unter Bildung einer Komplexverbindung mit dem Absorptionsmaximum bei 390 mμ. Der molare Extinktionskoeffizient ist mit 23300 angegeben. Im Konzentrationsbereich von 2—20 μg Oxytetracyclin/ml ist das Beersche Gesetz

erfüllt. — Zur Bestimmung von Oxytetracyclin in *biologischen Flüssigkeiten* (außer Blut) wird eine Butanolextraktion der Komplexverbindung empfohlen.

Nach T. Sakaguchi und K. Taguchi[3] kann auch *Tetracyclin* nach der für die Chlor- und Oxyverbindung angegebenen Methode bestimmt werden. Die komplexe Tetracyclin-Thorium(IV)-verbindung hat ihr Absorptionsmaximum bei 395 mμ. Der molare Extinktionskoeffizient liegt noch über dem der beiden anderen Tetracycline.

[1] Pharm. Bull. **3**, 147, 166, 303 (1955). — [2] Jap. Analyst **6**, 782—787 (1957), [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Chiba (Japan). — [3] Jap. Analyst **6**, 787—790 (1957) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Chiba (Japan).

K. Machner

Zur Bestimmung von Chlortetracyclin (Aureomycin) messen D. H. Feldman, H. S. Kelsey und J. C. Cavagnol[1] die Fluorescenz des durch alkalische Zersetzung bei p_H 7,5 sich bildenden Isochlortetracyclins photometrisch. Die Ergebnisse sind auf $\pm$ 2,2% genau. — *Arbeitsweise.* Man verdünnt 5 ml der Probe mit 0,1 n Salzsäure bis zu einer Konzentration von 10—70 μg Chlortetracyclin/ml. Öle löst man vorher mit einer ausreichenden Menge Methanol. Bei hohen Calciumgehalten gibt man vor der Verdünnung 1 ml 5%ige ÄDTA-Lösung zu. Man entnimmt von der so bereiteten Lösung einen aliquoten Teil von 2 ml (fügt 2 ml 0,1 n Salzsäure zu, falls vorher nicht verdünnt worden ist), versetzt mit 15 ml Pufferlösung (0,340 m an K_2HPO_4 und 0,0545 m an KH_2PO_4), erhitzt 6 min auf 100° C, läßt abkühlen, füllt auf 100 ml auf und mißt die Fluorescenz mit einem Fluorophotometer unter Verwendung von Corning Nr. 5840 als Primärfilter und Corning Nr. 3389 und 5113 als Sekundärfilter. (435 mμ.) Man entnimmt zur Bestimmung des Blindwertes einen weiteren aliquoten Teil von 2 ml, versetzt falls erforderlich mit 2 ml 0,1 n Salzsäure, füllt im 100 ml-Meßkolben mit dest. Wasser zu etwa $^3/_4$ auf, gibt 15 ml Pufferlösung zu, füllt dann zur Marke auf und mißt (innerhalb 2 min nach dem Zusatz der Pufferlösung) die Fluorescenz. Als Standard dient eine wäßrige Lösung von krist. Chlortetracyclin (50 μg/ml), die unter Kühlung bis zu 3 Wochen haltbar ist und ebenso wie die Probelösung behandelt wird.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1697—1700 (1957). Amer. Cyanamid Co., Pearl River, N. Y. (USA).

A. Mührdel

4. Analyse von biologischem Material

Papierchromatographie der Hämoglobine. F. Vella und J. W. H. Lugg[1] teilen kurz mit, daß Versuche zur Hämoglobintrennung mit Hilfe aufsteigender eindimensionaler oder auch zweidimensionaler Papierchromatographie erfolglos blieben. Als Lösungsmittel dienten wäßrige Rohrzuckerlösungen, Kochsalzlösungen, Veronalpuffer (p_H 8,6), Citratpuffer (p_H 6,5), Gemische aus n-Butanol-Essigsäure-Wasser, n-Butanol-Wasser, wassergesättigtes Pyridin, Lutidin-Äthanol-Wasser und Äthanol-Wasser.

[1] Clin. Chemistry **3**, 270—272 (1957). Dep. Biochem., Univ. Singapore (Malaya).

D. Jentzsch

Porphyrine in Nitrobenzol können nach S. Aronoff[1] mit Perchlorsäure in Dioxan mit photometrischer Endpunktsanzeige titriert werden. Dabei ergeben Uroporphyrinoctamethylester und Tetraphenylchlorin eindeutig zwei Titrationsstufen (Mono- und Disalz), die Chlorophyllchlorine — Phäophorbid a, Pyrophäophorbid, Chlorin p_6 und Purpurin 18 — überhaupt keine erste Stufe (Monosalz),

während Tetraphenylporphin, Phylloerythrin und Protoporphin nur eine Andeutung der ersten Basenstufe zeigen. Dies wird aus der Lage der isosbestischen Punkte abgeleitet. Ferner enthält die Arbeit eine Tabelle der Dissoziationskonstanten der oben angegebenen Verbindungen in Nitrobenzol und eine Diskussion über das unterschiedliche Verhalten der Porphyrine bei der Säuretitration.

[1] J. physic. Chem. **62**, 428—431 (1958). Iowa State College, Ames, Iowa (USA). H. Specker

Die Papierelektrophorese von Porphyrinen verbesserten R. E. Sterling und A. G. Redeker[1] durch Anwendung eines ÄDTA-Puffers [0,05 m ÄDTA-Lösung (Dinatriumsalz) mit 10 n Natronlauge auf p_H 8,6 eingestellt]. Die mit Pufferlösung getränkten und leicht abgetrockneten Streifen werden bei 5° ± 1° C und 200 Volt 1 Std vorbehandelt. Dann werden die Porphyrinlösungen in Pyridin-Ammoniak (13 Teile 3%iges Ammoniak auf 1 Teil Pyridin) in Mengen von 0,03—0,1 ml aufgetragen. Die Elektrophorese läuft dann 4 Std bei 5° ± 1° C und 200 Volt. Im UV-Licht werden fluorescierende Banden ausgeschnitten und die feuchten Abschnitte mit 6 ml Salzsäure ausgezogen. Für Copro-, Proto- und Uroporphyrin sind die Salzsäurekonzentrationen 0,15 n, 0,55 n und 0,5 n. Nach wiederholtem Umschütteln während 20 min wird zentrifugiert und die überstehende Lösung im Beckman-Spektrophotometer gemessen. Es werden von Uroporphyrin 96 ± 3%, von Coproporphyrin 87 ± 1% und von Protoporphyrin 87 ± 2,5% wiedergefunden. In Barbitalpuffer (p_H 8,6) ist die Beweglichkeit die gleiche wie in ÄDTA-Puffer allein, eine Mischung des ÄDTA-Puffers p_H 8,6 mit Barbitalpuffer p_H 8,6 (1:4) ergibt aber für Uroporphyrin einen Wanderweg von 10 cm (gegenüber 6—6,5 cm mit ÄDTA allein), für Coproporphyrin 1 cm (0—0,2 cm). Protoporphyrin bleibt in beiden Fällen am Start.

[1] Scand. J. clin. Laborat. Invest. **9**, 407—408 (1957). School Med. a. County Hosp., Univ. Los Angeles, Calif. (USA). B. Rossmann

Die chromatographische Trennung und Identifizierung von Uroporphyrinen beschreiben T. C. Chu und E. Ju-Hwa Chu[1]. — *Arbeitsweise.* Zur *Säulenchromatographie* wird Hyflo-Super-Cel benutzt. Die Probe wird in Chloroform gelöst, mit etwas Hyflo-Super-Cel gut gemischt, lufttrocken in 2—3 mm dicker Schicht auf die festgefüllte Säule gebracht und noch mit einer 1 cm-Schicht bedeckt. Man saugt leicht schon vor der Aufbringung des Lösungsmittels und dann weiter, bis die Lösungsmittelfront das Ende der Säule erreicht hat. Streifenbildung wird so vermieden. Zur Trennung der Rohporphyrinester verwendet man als Lösungsmittel Chloroform/Petroläther (Kp 30—60° C) (1:2). Es können etwa 6 Zonen mit mehr als 8 Porphyrinen unterschieden werden, darunter die Coproporphyrine I und III (C I, III), die Uroporphyrine I und III (U I, III) und weniger bekannte Porphyrine (7 III; 5 I, III; 6 III und 8). Zur Trennung der Ester von U I und III verwendet man ein Rohr mit den Maßen 1,8 × 40 cm und eine Probemenge von 0,5 mg. Man gibt zuerst 50 ml Benzol, dann 50 ml Chloroform-Benzol (1:2) und schließlich 50 ml-Portionen des gleichen Gemisches mit jeweils 1, 2 und 3 Tropfen Äthanol auf. Nach $1^1/_2$ Std wird das Säulenende erreicht. Man markiert im UV-Licht die fluorescierende Zone (etwa 12 cm) und eluiert jeden Zentimeter für sich mit Chloroform. Die oberen enthalten nur U III-, die unteren nur U I-Ester. Für Proben von 2—3 mg benutzt man größere Säulen (3 × 60 cm). Man läßt zuerst 150 ml Benzol und dann vier 150 ml-Portionen Chloroform-Benzol mit jeweils 0-, 3-, 6- und 9 Tropfen Äthanol durchlaufen. Nach 2—3 Std beträgt die Zonenlänge 20—25 cm. — *Papierchromatographie.* Die Methoden von 1. T. C. Chu, A. A. Green und E. Ju-Hwa Chu[2] und 2. J. E. Falk und A. Benson[3] wurden nur in der Ausführung etwas modifiziert.

1: Man entwickelt zuerst mit einem Gemisch von 3 ml Kerosin und 3 ml Chloroform 20 min lang in einer Kerosinatmosphäre. Die zweite Entwicklung erfolgt 1 Std lang mit einem Gemisch von 5 ml Kerosin und 0,9 ml n-Propanol in Kerosinatmosphäre. Die Front des zweiten Lösungsmittelbades dient zur R_f-Berechnung. Die Probentüpfelstartlinie soll sich 1,2 cm vom unteren Rand entfernt befinden, die Tüpfelgröße 2 mm im Durchmesser bei 0,5 μg betragen. — 2: Die Ausführung unterscheidet sich von 1 durch die zweite Entwicklung, die mit einem Gemisch von 4,4 ml Kerosin und 1,8 ml Dioxan in einer diesem Gemisch entsprechenden Atmosphäre 1 Std bei 22—24° C vorgenommen wird. Die Tüpfelgröße ist wie bei 1, aber 0,3 μg entsprechend. Bei Raumtemperaturen von etwa 20 oder 26° C sind 4,3 oder 4,5 ml Kerosin zu wählen. Auf diese Weise erzielt man eine bessere Trennung der Uroporphyrin-Ester und reproduzierbarere R_f-Werte.

[1] J. biol. Chemistry **227**, 505—516 (1957). Immaculate Heart Coll., Los Angeles, Cal. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **190**, 643 (1951). — [3] Biochemic. J. **55**, 101 (1953).

H. Freytag

Eine mikrophotofluorimetrische Methode zur Bestimmung von Riboflavin (I), Flavinmononucleotid (II) und Flavin-adenindinucleotid (III) *in Gewebe oder Mikroorganismen* hat K. Yagi[1] ausgearbeitet. — *Extraktion.* Man wägt 0,1—1,0 g frisches Gewebe, gibt einige ml 80° C warmes Wasser zu und hält die Temperatur noch 3—5 min auf 80° C. Dann homogenisiert man in einem Glasapparat, verdünnt den Gewebebrei mit Wasser, erwärmt 15 min lang auf 80° C, kühlt und füllt mit Wasser auf ein bestimmtes Volumen (*b*) auf. Dann zentrifugiert man und gießt die überstehende blanke Flüssigkeit ab. — *Bestimmung der Gesamt-Flavine.* Man gibt in ein Zentrifugenglas A 1 ml (*a*) des Zentrifugates und versetzt mit 1 ml Wasser und 2,0 ml 1 n Natronlauge. Ein zweites Zentrifugenglas B beschickt man mit 1 ml Zentrifugat, 2,0 ml 1 n Natronlauge und 1 ml Wasser, in dem 0,1 μg I gelöst ist. A und B bestrahlt man nun 30—60 min lang bei 10—30° C mit einer Fluorescenzlampe Mazda FL 20 D (Skizze im Original). Dann versetzt man den Inhalt von A und B mit je 0,2 ml Eisessig und 6,0 ml wassergesättigtem Chloroform, kühlt, schüttelt etwa 30 sec und zentrifugiert. Man ermittelt nun in einem Mikrofluorophotometer die Stärke der Fluorescenz beider Chloroformauszüge gegen einen Blindansatz mit Wasser anstelle des Zentrifugates (C). Bezeichnet man die Intensität der Fluorescenz von B mit f_1, die von A mit f_2 und die von C mit f_3, so läßt sich der Flavin-Gesamtgehalt in μg/g Gewebe nach folgender Formel berechnen: $0{,}1 \cdot (f_2 - f_3)/(f_1 - f_2) \cdot b/a$. — *Papierchromatographische Trennung von I, II und III.* Man sättigt das restliche Zentrifugat der Gewebe-Extraktion mit Ammoniumsulfat, filtriert und schüttelt das Filtrat mit 2 ml wassergesättigtem Phenol aus. Nach dem Zentrifugieren wiederholt man die Phenolextraktion und versetzt die vereinigten Phenolauszüge mit 0,3—0,5 ml Wasser und 15 ml Äther, schüttelt durch und trennt die wäßrige Phase durch Zentrifugieren ab. Von dieser bringt man 0,05—0,10 ml in Form eines 5 cm langen Streifens auf die Startlinie eines 2×30 cm großen Filtrierpapierstreifens und läßt an der Luft trocknen. Dann entwickelt man mit der oberen Phase des Systems n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5) und lokalisiert die Komponenten im UV-Licht. Die R_f-Werte betragen für III 0,02, für II 0,09 und für I 0,3. Nach dem Ausschneiden der Substanzstreifen wäscht man diese zunächst sorgfältig mit Äther, um die letzten Phenolreste zu entfernen, eluiert sie dann mit Wasser, erwärmt die Auszüge für 15 min auf 80° C und führt dann die Bestimmung nach der beschriebenen Technik aus. Die Arbeit enthält auch ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Flavine.

[1] Bull. Soc. chim. France **1957**, 1543—1550. Inst. Biol. phys.-chim. und C.N.R.S., Paris (Frankreich).

K. Söllner